

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

Departamento de Química Orgánica



**TECNOLOGÍA SOLAR PARA LA DESINFECCIÓN DE
AGUAS EN ÁREAS RURALES MEDIANTE PRODUCCIÓN
FOTOSENSIBILIZADA DE $^1\text{O}_2$**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Francisco Manjón Navarro

Bajo la dirección de los doctores
Guillermo Orellana Moraleda
David García Fresnadillo

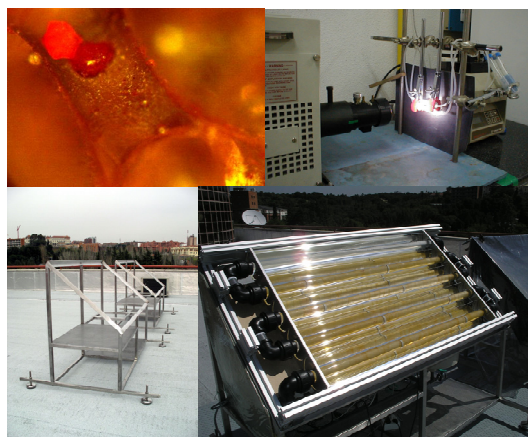
Madrid, 2011

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**TECNOLOGÍA SOLAR PARA LA DESINFECCIÓN
DE AGUAS EN ÁREAS RURALES MEDIANTE
PRODUCCIÓN FOTOSENSIBILIZADA DE $^1\text{O}_2$**



MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Francisco Manjón Navarro

Directores:

Prof. Guillermo Orellana Moraleda

Prof. David García Fresnadillo

Madrid, 2010

El presente trabajo de Tesis doctoral ha sido llevado a cabo en las instalaciones y laboratorios pertenecientes al grupo de investigación **GSOLFA** (Grupo de Sensores Optoquímicos y Fotoquímica Aplicada) del Departamento de Química Orgánica I de la Facultad de Ciencias Químicas de la UCM.

Directores:

Prof. Guillermo Orellana Moraleda

Prof. David García Fresnadillo

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a David García Fresnadillo y a Guillermo Orellana Moraleda por brindarme la posibilidad de realizar este trabajo de investigación y por darme la oportunidad de completar mi formación, tanto a nivel académico como profesional. También quisiera agradecerles a ambos su paciencia, orientaciones y confianza y, por supuesto, su gran calidad humana.

También he de dar las gracias de manera especial a la Dra. María Dolores Romero Díaz del Departamento de Ingeniería Química de la UCM por su disponibilidad para ser mi tutora durante el periodo de investigación.

Agradecer, asimismo, a la Unión Europea y a la Universidad Complutense de Madrid por la financiación en mi periodo de investigación. A las empresas tecnológicas AoSol (Portugal) y ECOSYSTEM (España) por su contribución necesaria para el desarrollo de mi trabajo, en especial a Martín Vincent por su disposición y ayuda. Y también a José Montero, de la Agencia Estatal de Meteorología (Madrid) y a César Gómez del Departamento de Ingeniería Química de la UCM, por su atenta colaboración y su gentileza.

Mencionar a la *Fundación General* de la UCM, a la *Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación* de la UCM, a la empresa tecnológica *Huber* (Alemania), a la revista científica *Photochemical & Photobiological Sciences* y a P. Vollhardt y N. Schore por el reconocimiento al trabajo aquí desarrollado (**ver Anexos**).

Por supuesto, no puedo olvidarme de los que son o han sido mis compañeros en el Laboratorio de Fotoquímica Aplicada y en el grupo de Sensores Ópticos, por su ayuda, amistad y excelente trato humano (Óscar Seco, Emilia R. Merino, Pedro Ramiro, Cristina Grande, Elena Benito, Ana C. Trindade, Javier L. Urraca, Diana E. Wetzler, Marina López, Yolanda Almonacid, M. Luisa Contreras, Fernando Navarro, Nuria Martín, Aurélien Auger, Sonia Herranz, Erika Rodríguez, André Santos, Irene Izquierdo, Ruymán Santana, Laura Tormo, Bruno Pedras, Sergio Abad, Silvia Mateos, Elena Peña, Pilar Cercós, Clara Cano, David Haigh, Jaime Mateos, Gizachew Yeabiyo, Luca Zanella, Kassio M. Gomes de Lima, Nicolás Seclén, Sofia Martins, Silvia Pinheiro, Marta Grande, Silvia Cabañas, Juan López, Jolanta Zdunek, Mónica Álvarez, Klecia Morais, Zhen-He Chen, Khalid Mehmood, Manoel Veiga, Ana B. Descalzo y en especial a M. Emilia Jiménez-Hernández, Laura Villén y Montserrat Santana), así como a las profesoras M. Cruz Moreno-Bondi, M. Dolores Marazuela, Ana M. Gutiérrez y M. Concepción Pérez. A Soledad Martínez y a Florencio Moreno del Departamento de Química Orgánica I por su amabilidad y simpatía. También quiero agradecer a Ruth Núñez, Ester Rojo, Silvia García y Patricio López del Departamento de Ingeniería Química, por su sincera amistad.

Y por último, debo agradecer a mis padres y a mi hermana por su cariño, confianza y apoyo diario, fundamental para seguir adelante.

Abreviaturas y acrónimos.

A	Área
A_λ	Absorbancia
AOP	Proceso avanzado de oxidación
ASTM	Sociedad Americana de Pruebas y Materiales
ATCC	Colección Americana de Tipos de Cultivos
B_i	Factor preexponencial en ajustes multiexponenciales
CCD	Dispositivo de cargas eléctricas interconectadas
(US) CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los EE. UU.
CECT	Colección Española de Cultivos Tipo
Cel	Celulosa
CFU (UFC)	Unidad formadora de colonias
CI	Conversión interna
CIS	Cruce intersistemas
CNEA	Comisión Nacional de Energía Atómica (Argentina)
CPC	Colelector cilindro-parabólico compuesto
δ	Escala de desplazamiento químico en la frecuencia de RMN
$^1\Delta_g$	Notación espectroscópica del estado excitado singlete de menor energía del oxígeno
D_H	Diámetro hidráulico
D_{O_2}	Coefficiente de difusión del O_2
DOE	Departamento de Energía de los EE. UU.
ε	Coefficiente de absorción molar
$^1\Sigma_g$	Notación espectroscópica del segundo estado excitado singlete de menor energía del oxígeno
$^3\Sigma_g$	Notación espectroscópica del estado fundamental con carácter triplete del oxígeno molecular (O_2)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
E	Irradiancia
E^0	Potencial redox
ECACC	Colección Europea de Cultivos de Células Animales
EtOH	Etanol
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
ESI-MS	Espectrometría de masas con ionización por electrospray
Φ	Eficiencia de fotodesinfección de un sensibilizador con respecto al número de fotones absorbidos

Φ_{Δ}	Rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete
$\Phi_{\Delta\text{op}}$	Rendimiento cuántico operacional de generación de oxígeno singlete
Φ_{CIS}	Rendimiento cuántico de cruce intersistemas
$\Phi_{\text{HO}\cdot}$	Rendimiento cuántico de generación de radical hidroxilo
f_{Δ}^{T}	Fracción de estados T_1 que son desactivados por O_2 produciendo $^1\text{O}_2$
FAO-SDRN	Servicio del Medioambiente y los Recursos Naturales de la OMS para la Agricultura y la Alimentación
FLIM	Microscopía confocal de imagen por tiempo de vida de fluorescencia
FTIR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
H_0	Fluencia
HHWT/HWT/HWTS	Tratamiento doméstico y almacenamiento seguro del agua
HOMO	Orbital molecular ocupado de mayor energía
i.d. (\varnothing_{int})	Diámetro interno
I	Intensidad de emisión de luminiscencia en equilibrio con aire
I_0	Intensidad de emisión de luminiscencia en ausencia de O_2
ilum	Iluminado
JCRB	Colección Japonesa de Recursos Biológicos de Investigación
k	Constante cinética de inactivación bacteriana
k_{nr}	Constante cinética de desactivación del estado excitado por vías no radiantes
k_{q}	Constante cinética de desactivación bimolecular del estado excitado
k_{r}	Constante cinética de desactivación del estado excitado por vías radiantes
K_{SV}	Constante de Stern-Volmer
L_{λ}	Emisión de radiación luminiscente
LC	Transferencia de carga centrada en el ligando
LED	Diodo emisor de luz
LIC	País de renta baja
LMCT	Transferencia de carga del ligando hacia el metal
\log	Logaritmo decimal
LPS	Lipopolisacáridos
LUMO	Orbital molecular vacío de menor energía
μ	Viscosidad dinámica
MC	Transferencia de carga centrada en el metal

MeOH	Metanol
MIC	País de renta media
MLCT	Transferencia de carga del metal hacia el ligando
MPF	1-(4-metil)-piperazinilfullereno
ν	Frecuencia
nC_{60}	Nanoagregados de fullereno en suspensión acuosa
N	Concentración bacteriana
N_0	Concentración bacteriana inicial
NMR (RMN)	Resonancia magnética nuclear
NPT	Rosca americana cónica para tubos
NTU	Unidad nefelométrica de turbidez
Ny	Nylon
$^1\text{O}_2$	Oxígeno molecular singlete ($^1\Delta_g$)
o.d. (\varnothing_{ext})	Diámetro externo
ONG	Organización no gubernamental
$P\text{O}_2^T$	Fracción de estados T_1 que son desactivados por O_2
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDT	Terapia fotodinámica
PET	Polietilentereftalato
PMT	Tubo fotomultiplicador
POU	(Tratamiento doméstico del agua en el) lugar de uso
ppm	Parte por millón
pSi	Silicona porosa de poli(dimetilsiloxano)
PTC	Colector cilindro-parabólico
PTFE	Politetrafluoretileno
PVC	Policloruro de vinilo
PVDF ⁺	Difluoruro de polivinilideno
Q	Dosis de radiación acumulada por unidad de volumen
q_v	Caudal volumétrico
ρ	Densidad
R_λ ($R_{\lambda,0}$)	Reflectancia (r. de material de referencia)
RBN^{2+}	tris(4,4'-dinonil-2,2'-bipiridina)rutenio(II)
RDB^{2+}	tris(4,4'-difenil-2,2'-bipiridina)rutenio(II)
RDP^{2+}	tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)rutenio(II)
Re	Número adimensional de Reynolds
RNO	<i>N,N</i> -dimetil- <i>p</i> -nitrosoanilina
ROS	Especies reactivas del oxígeno

RSD ⁴⁻	tris(1,10-fenantrolinil-4,7-bis(bencenosulfonato)rutenato(II)
RV	Relajación vibracional
S ₀	Estado fundamental con carácter singlete de una molécula
S ₁	Estado excitado singlete más bajo en energía de una molécula
SODIS	Desinfección solar de aguas
SPT	Cronometraje de fotones individuales
τ_{Δ}	Tiempo de vida del oxígeno singlete
τ_{M}	Tiempo de vida promedio con pesada preexponencial de un luminóforo equilibrado en aire
τ_{M0}	Tiempo de vida promedio con pesada preexponencial de un luminóforo en ausencia de O ₂
τ_{T}	Tiempo de vida del estado excitado T ₁ equilibrado en aire
τ_{T0}	Tiempo de vida del estado excitado T ₁ en ausencia de O ₂
t	Tiempo
T ₁	Estado excitado triplete más bajo en energía de una molécula
TC-SPC	Conteo de fotones individuales correlacionados con el tiempo
THF	Tetrahidrofurano
TRES	Espectroscopía de emisión con resolución temporal
TTA	Mezcla de tolueno, THF y acetona
UCM	Universidad Complutense de Madrid
UN (ONU)	Organización de Naciones Unidas
UNESCO	Organización de Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura
UNICEF	Fondo de Naciones Unidas para la Infancia
UV	Ultravioleta
v	Velocidad lineal media
v/v	Relación volumétrica
$V(\text{L})$	Volumen
$V(\text{V})$	Voltaje
Vis	Visible
WHO (OMS)	Organización Mundial de la Salud
WHO/UNICEF JMP	Programa de Monitoreo Conjunto OMS/UNICEF

ÍNDICE.

OBJETIVOS. (9)

INTRODUCCIÓN. (11)

1. **LA SITUACIÓN DEL AGUA EN EL MUNDO. (11)**
2. **TRATAMIENTOS DEL AGUA. (17)**
 - 2.1. **Bacterias como indicadores de contaminación. (17)**
 - 2.2. **Tratamientos de mejora de la calidad del agua en el ámbito doméstico. (22)**
 - 2.2.1. *Ebullición del agua. (24)*
 - 2.2.2. *Sedimentación y coagulación-floculación. (25)*
 - 2.2.3. *Filtración. (26)*
 - 2.2.4. *Cloración. (26)*
 - 2.2.5. *Desinfección solar. (27)*
 - 2.2.6. *Otras alternativas de tratamientos de agua a nivel doméstico. (28)*
 - 2.2.7. *Comparación entre métodos de tratamiento de agua en el lugar de uso. (29)*
 - 2.3. **Tecnologías fotoquímicas avanzadas de oxidación aplicadas al tratamiento de agua en el lugar de uso. (32)**
 - 2.3.1. *Procesos avanzados de oxidación (AOPs). (33)*
 - 2.3.2. *Fotosensibilización para la generación de oxígeno singlete como especie reactiva. (36)*
El oxígeno singlete. (37)
Producción fotosensibilizada de oxígeno singlete. (40)

3. SISTEMAS DE DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA DE AGUA. (46)

- 3.1. Compuestos de coordinación de Ru(II) y fullereno (C_{60}) y sus derivados como fotosensibilizadores. (46)**
 - 3.1.1. Complejos de rutenio(II). (46)**
 - 3.1.2. Fullereno (C_{60}) y derivados. (49)**
 - 3.2. Materiales fotosensibilizadores. (52)**
 - 3.2.1. Polímeros de soporte para la inmovilización de fotosensibilizadores. (52)**
 - 3.2.2. Caracterización fotofísica y fotoquímica de los materiales fotosensibilizadores (sensibilizador inmovilizado en soporte). (54)**
 - 3.3. Sistemas de fotodesinfección. (57)**
 - Colectores solares. (58)**
 - Cinética de desinfección. (60)**
-

DESARROLLO EXPERIMENTAL. (63)

- 1. FOTOSENSIBILIZADORES DE TRABAJO. (63)**
 - 1.1. Complejos luminiscentes de Ru(II). (63)**
 - 1.2. Fullereno (C_{60}) y un derivado de C_{60} como fotosensibilizadores. (65)**
 - 2. POLÍMEROS DE SOPORTE DE LOS FOTOSENSIBILIZADORES. (65)**
 - 3. FOTORREACTORES PARA LA DESINFECCIÓN DE AGUAS. (69)**
 - 3.1. Simulador solar a escala de laboratorio. (69)**
 - 3.2. Prototipos de reactor solar. (71)**
 - Componentes de los sistemas de fotodesinfección. (73)**
 - Variables y parámetros operacionales en los reactores solares. (75)**
-

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS. (83)

- (A) **SOLAR WATER DISINFECTION BY SINGLET OXYGEN PHOTOGENERATED WITH POLYMER-SUPPORTED Ru(II) SENSITIZERS.** (Jiménez-Hernández, M. E., Manjón, F., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. *Solar Energy*, **2006**, *80* (10), 1382-1387). **(87)**
 - (B) **SOLAR WATER DISINFECTION BY PHOTOCATALYTIC SINGLET OXYGEN PRODUCTION IN HETEROGENEOUS MEDIUM.** (Villén, L., Manjón, F., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. *Appl. Catal. B: Environ.*, **2006**, *69*, 1-9). **(97)**
 - (C) **ON THE FACTORS INFLUENCING THE PERFORMANCE OF SOLAR REACTORS FOR WATER DISINFECTION WITH PHOTOSENSITIZED SINGLET OXYGEN.** (Manjón, F., Villén, L., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, *42*, 301-307). **(115)**
 - (D) **WATER DISINFECTION WITH Ru(II) PHOTOSENSITIZERS SUPPORTED ON IONIC POROUS SILICONES.** (Manjón, F., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2009**, *8*, 926-932). **(141)**
 - (E) **SINGLET OXYGEN SENSITIZING MATERIALS BASED ON POROUS SILICONE: PHOTOCHEMICAL CHARACTERIZATION, EFFECT OF DYE RELOADING AND APPLICATION TO WATER DISINFECTION WITH SOLAR REACTORS.** (Manjón, F., Santana-Magaña, M., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2010**, DOI: 10.1039/c0pp00026d). **(155)**
-

DISCUSIÓN INTEGRADORA. (173)

- 1. MATERIALES FOTOSENSIBILIZADORES. (173)**
 - 1.1. Sensibilizadores basados en complejos de Ru(II). (173)**
 - 1.2. Sensibilizadores basados en fullereno. (182)**
 - 1.3. Suspensiones acuosas de agregados nanométricos de C_{60} (nC_{60}). (191)**
 - 2. SISTEMAS DE FOTODESINFECCIÓN. (196)**
 - 3. RESULTADOS DE DESINFECCIÓN. (201)**
 - 3.1. Inactivación bacteriana por fotosensibilizadores en fase heterogénea. (202)**
 - 3.1.1. Materiales basados en fotosensibilizadores adsorbidos. (202)**

Resultados de desinfección a pequeña escala. (202)
Cambio de escala: reactores solares. (206)
Desinfección de agua con reactores solares ubicados en zonas rurales aisladas. (214)
 - 3.1.2. Materiales basados en fotosensibilizadores inmovilizados electrostáticamente. (216)**
 - 3.1.3. Materiales basados en fotosensibilizadores adsorbidos y agregados. (222)**
 - 3.2. Inactivación bacteriana por fotosensibilizadores en fase homogénea vs. fase microheterogénea. (226)**
 - 4. ANÁLISIS DE COSTES. (230)**
-

CONCLUSIONES. (239)

Materiales fotosensibilizadores. (239)
Fotodesinfección de aguas. (240)
Perspectivas de uso de los fotosistemas de tratamiento de agua desarrollados. (242)

OBJETIVOS.

El presente trabajo de Tesis doctoral posee como objetivo general el desarrollo de un sistema capaz de permitir el suministro sostenible de agua para consumo humano a unidades familiares aisladas, situadas en regiones soleadas del planeta, en las que la aplicación de otras técnicas convencionales de tratamiento de agua resulta comprometida. El trabajo supone un avance en el ámbito del conocimiento, dado que se estudian y desarrollan *ex novo* materiales fotocatalíticos capaces de generar una especie reactiva del oxígeno, el oxígeno molecular singlete, de acción germicida, que se disponen en un sistema de aprovechamiento optimizado de la radiación solar.

El carácter multidisciplinar del trabajo realizado, que incluye aspectos relacionados con la Ingeniería Química, la Química Orgánica, la Fotoquímica o la Microbiología, conduce a plantear los siguientes objetivos específicos:

- 1 – Aplicación del oxígeno molecular singlete, como especie oxidante, a la desinfección bacteriana de agua destinada a consumo humano.
- 2 – Selección de colorantes adecuados (sensibilizadores) capaces de generar oxígeno singlete de manera eficaz, a partir del oxígeno molecular disuelto en el agua, mediante un proceso de fotosensibilización con luz solar.
- 3 – Selección de un soporte polimérico biocompatible y adecuado para inmovilizar a los fotosensibilizadores, que permita desarrollar un proceso de inactivación bacteriana en fase heterogénea.
- 4 – Caracterización fotoquímica y fotofísica del material fotosensibilizador (soporte y sensibilizador).
- 5 – Selección de bacterias representativas de la contaminación en aguas reales y estudio de la eficiencia de desinfección bacteriana a escala de laboratorio utilizando un simulador solar.
- 6 – Selección de la tecnología solar adecuada para el aprovechamiento óptimo de la radiación solar en un proceso doméstico de tratamiento de aguas.
- 7 – Escalado, implementación y optimización de dos prototipos de reactores solares.

8 – Caracterización del proceso de desinfección y comparación de la eficacia de los prototipos, llevando a cabo un estudio de la durabilidad de los materiales sensibilizadores y determinando la cantidad de radiación solar necesaria para desinfectar un volumen de agua diariamente.

9 – Estimación de las posibles mejoras del sistema. Planteamiento de alternativas y mejoras del material sensibilizador, recarga del mismo y reutilización.

INTRODUCCIÓN.

1. LA SITUACIÓN DEL AGUA EN EL MUNDO.

Uno de los principales problemas de la humanidad en pleno siglo XXI es el acceso al agua potable y a medios adecuados de saneamiento. Esta situación, lejos de solucionarse, influye de manera directa sobre la salud de una gran parte de la población mundial e, indirectamente, repercute en el desarrollo, a todos los niveles, de los países más desfavorecidos. La falta de agua potable afianza el ciclo de la pobreza, dado que las regiones pobres se encuentran en condiciones de mayor desventaja para afrontar éste y otros muchos problemas.¹

De acuerdo con datos de la OMS correspondientes al año 2007, más de 1100 millones de personas en todo el mundo, la mayoría en países en vías de desarrollo, no tienen acceso a suministro de agua potable, y más de 2600 millones sufren carencias en el acceso al saneamiento básico. Este hecho contribuye a la inmensa mayoría de los más de 4000 millones de casos de diarrea anuales y a la muerte de 1,8 millones de personas cada año por causa de enfermedades diarreicas, de las que el 90% corresponden a niños menores de 5 años. Estas cifras indican que las enfermedades originadas por la contaminación microbiológica del agua ingerida suponen la tercera causa de mortalidad mundial por enfermedades infecciosas, sólo superada por las enfermedades respiratorias y por el virus del SIDA. De hecho, el total de las muertes anuales relacionadas con la falta de agua saneada se estima que es unas 10 veces superior a las muertes causadas por las guerras en el mundo.^{2,3}

Dada la gravedad de la situación, el problema del agua tiene calado a nivel global y, como consecuencia, se ha generado una creciente sensibilización mundial a este respecto. Como antecedente, en la declaración final correspondiente a la primera conferencia de Naciones Unidas dedicada a los recursos del agua, celebrada en Argentina en 1977, ya se afirma que “el ser humano tiene el derecho al acceso a agua potable en cantidades y calidad iguales a sus necesidades básicas”. Sin embargo, el punto de inflexión se sitúa en la Cumbre del Milenio de Naciones Unidas (“*United Nations Millennium Summit*”) celebrada en Nueva York en el año 2000, donde los principales líderes mundiales discutieron el papel de Naciones Unidas de cara al siglo XXI y se adoptó la llamada **Declaración del Milenio**. En dicha Declaración se establecen unos puntos de acuerdo en diversos temas de interés mundial encaminados a lograr un mundo más pacífico, más próspero y más justo. En este sentido, quedan recogidos una serie de **Objetivos y Metas de Desarrollo del Milenio**, entre los cuales

¹ Cooney, C. “*Why Is Global Sanitation so Elusive?*”, *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, 42, 4240.

² “*Combating Waterborne Disease at the Household Level*”, **2007**, World Health Organization, Geneva. (<http://www.who.int>).

³ <http://news.bbc.co.uk> (10/12/2004).

destaca la **Meta 10**, incluida dentro del Objetivo de garantizar la sostenibilidad del medio ambiente. De acuerdo a esta Meta 10, el reto consiste en reducir a la mitad la proporción de personas que carecen de acceso sostenible a agua potable para el año 2015.⁴ En la Cumbre Mundial para un Desarrollo Sostenible, celebrada en 2002 en Johannesburgo, esta meta se amplió para incluir también el acceso al saneamiento básico y se reconoció que el agua como recurso es un factor crítico para conseguir todos los demás objetivos marcados previamente. Hay que remarcar que, para tratar de dar un impulso a la llamada Meta 10, la Asamblea General de Naciones Unidas adoptó una resolución en 2003 por la que se proclama al periodo 2005–2015 en el que nos encontramos, como la Década Internacional para la Acción “Agua para la Vida”.

Contextualizado el problema y para tomar cierta perspectiva de la situación actual, se muestra en la [Tabla 1](#) la distribución por regiones de la cantidad de personas que no tenía acceso a fuentes de agua potable en el año 2002. De ella se deduce que Asia, el continente más grande y poblado del mundo, es la región con mayor cantidad de población desabastecida respecto al total. Sin embargo, es en una gran parte del continente africano donde existen unos problemas más serios de abastecimiento de agua potable, por tratarse de una región con una elevada cantidad de población neta en la que la proporción de personas desabastecidas alcanza más del 40%.

Tabla 1. Población sin acceso a agua potable por regiones (2002). Se muestran los % correspondientes a la población desabastecida en relación a las respectivas poblaciones y respecto a la población desabastecida total.

<i>REGIÓN</i>	Millones de personas	% relativo a cada zona	% relativo al total
Asia Oriental	303	22	28
África sub-sahariana	288	42	27
Sur de Asia	234	16	22
Sudeste Asiático	115	21	11
América Latina y Caribeña	60	11	6
Asia Occidental	23	12	2
Eurasia	20	7	2
África Septentrional	15	10	1
Economías Desarrolladas	15	2	1
Oceanía	3	48	< 1
TOTAL	1076	–	100

(Fuente: Programa de monitorización conjunta ONU/UNICEF –WHO/UNICEF JMP 2004–).

De acuerdo con las previsiones del aumento de la población mundial, se concluye la dificultad para alcanzar la mencionada Meta 10. Según datos de la OMS, se prevé un aumento anual en la población mundial de unos 75 millones de personas hasta el año 2015 y, para cumplir los objetivos fijados, unas 260.000 personas deberían acceder

⁴ “Health, Dignity, and Development: What Will It Take?”, 2005, UN Millenium Project. Task Force on Water and Sanitation.

diariamente a agua saneada hasta esa fecha.⁵ De acuerdo con las previsiones llevadas a cabo por Naciones Unidas (Figura 1), en el año 2050 se habrá pasado de una población mundial de 6000 millones de personas en el comienzo del siglo, a unos 8900 millones.⁶

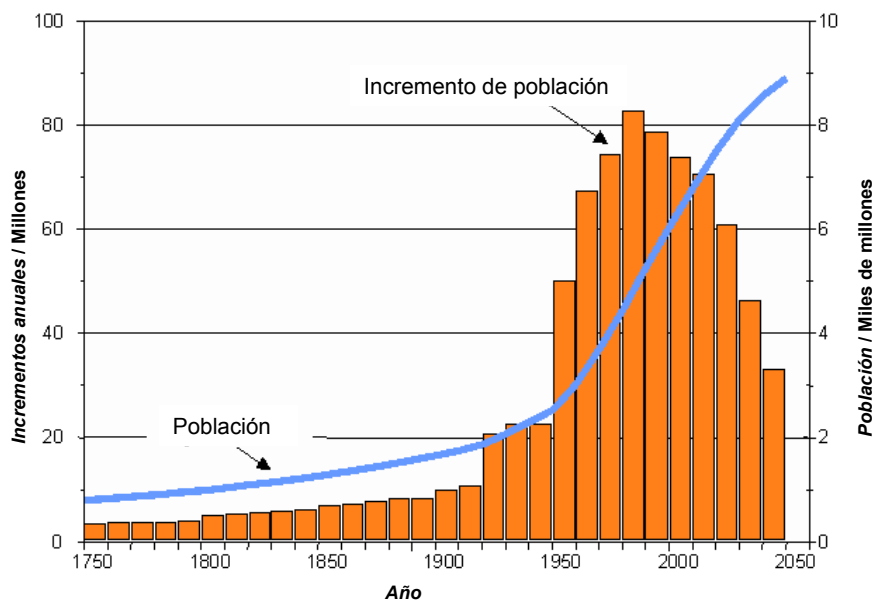


Figura 1. Aumento de la población mundial y variación de su incremento (Fuente: Sección de Población de Naciones Unidas. <http://www.un.org>).

Si se atiende a la distribución por regiones de la población en el mundo, nos encontramos con las previsiones de que la zona más poblada seguirá correspondiendo a Asia, pero será el continente africano el que experimentará un aumento más acusado de población (Tabla 2).

Tabla 2. Crecimiento demográfico mundial y previsiones por regiones, en millones de personas y porcentaje (entre paréntesis).

REGIÓN	1900	1950	1999	2050
África	133 (8,1)	221 (8,8)	767 (12,8)	1766 (19,8)
Asia	947 (57,4)	1402 (55,6)	3634 (60,8)	5268 (59,1)
Europa	408 (24,7)	547 (21,7)	729 (12,2)	628 (7,0)
América Latina y Caribeña	74 (4,5)	167 (6,6)	511 (8,5)	809 (9,1)
América del Norte	82 (5,0)	172 (6,8)	307 (5,1)	392 (4,4)
Oceanía	6 (0,4)	13 (0,5)	30 (0,5)	46 (0,5)
TOTAL	1650 (100)	2521 (100)	5978 (100)	8909 (100)

(Fuente: Sección de Población de Naciones Unidas. <http://www.un.org>).

⁵ “Water, Sanitation and Hygiene Links to Health”, 2004, World Health Organization, Geneva.

⁶ Galindo, J. “Salvemos Nuestro Planeta”, 2008, Lulu.com.

Otro punto de vista a tener en cuenta para entender las dificultades existentes, es la desigual distribución del consumo de agua en el mundo. Se estima que el ser humano emplea, en promedio, unos 50 L de agua al día para beber, cocinar y su higiene personal.⁷ En el año 2002 el Banco Mundial definía el suministro básico de agua para Sudáfrica en 25 L de agua por persona y día, a una distancia inferior a 200 metros del hogar. No obstante, mientras en los países europeos se consume un promedio de unos 150–200 L/día por persona,⁸ que pueden llegar hasta 269 L en Estados Unidos, en el continente africano únicamente son unos 6 L. A esto hay que unir el hecho de que la mayor cantidad de agua empleada en el mundo está destinada a la agricultura. Este sector es clave en los países en vías de desarrollo, pues el 80% de los ingresos de estos países proviene de la agricultura y los residentes en áreas rurales de los países más desfavorecidos a menudo priorizan el agua para la agricultura frente al agua para el uso doméstico. Por ello, la distribución de población entre áreas urbanas y rurales es un factor muy a tener en cuenta de cara a cumplir con los objetivos de sostenibilidad marcados. Sirva como dato que una gran parte de la población más pobre en el mundo, entre 800 y 1000 millones de personas, corresponde al ámbito rural. De 1900 a 1995, el consumo de agua en el mundo aumentó unas seis veces, lo que supone más del doble del crecimiento de la población, y este aumento es continuo a medida que se incrementa la demanda industrial, doméstica y, sobre todo, agrícola. Analizando las previsiones sobre la distribución de población en las regiones con problemas de abastecimiento de agua potable, nos encontramos con que más de un tercio de la población a la que se debe abastecer de agua saneada para el año 2015 se encontrará distribuida en zonas rurales (Tabla 3). Dadas las características de dichas zonas, con población dispersa, el acceso a agua potable y a saneamiento básico se convierte en una tarea más compleja que en las zonas urbanas, donde las infraestructuras son más fáciles de implantar.⁴

Tabla 3. Población (en millones de habitantes) a quien se debe de extender el acceso a agua potable para alcanzar la Meta 10 de la Declaración del Milenio en el año 2015.

REGIÓN	Urbana	Rural	Total
África sub-sahariana	175	184	359
Medio Oriente y África del Norte	104	30	134
Sur de Asia	243	201	444
Este de Asia y Pacífico	290	174	465
América Latina y Caribeña	121	20	141
Regiones Ex-Soviéticas y Estados Bálticos	27	0	27
TOTAL	961	609	1570

(Fuente: Programa de monitorización conjunta Naciones Unidas/UNICEF –WHO/UNICEF JMP 2004-, <http://www.un.org>).

⁷ Jaffe, S. “Facing the Global Water Crisis”, The Scientist, **2004**, 18, 18–22.

⁸ “Freshwater in Europe”, **2008**, UNEP/DEWA~Europe.

Otro criterio a considerar a la hora de analizar las necesidades de agua, es la distribución de agua en el planeta (Figura 2). Aunque el 70% de la superficie terrestre se encuentra cubierta por agua, apenas el 2,5% es agua dulce, de la cual sólo un 1% es accesible desde la superficie, si bien ésta distribución no es equitativa.⁹

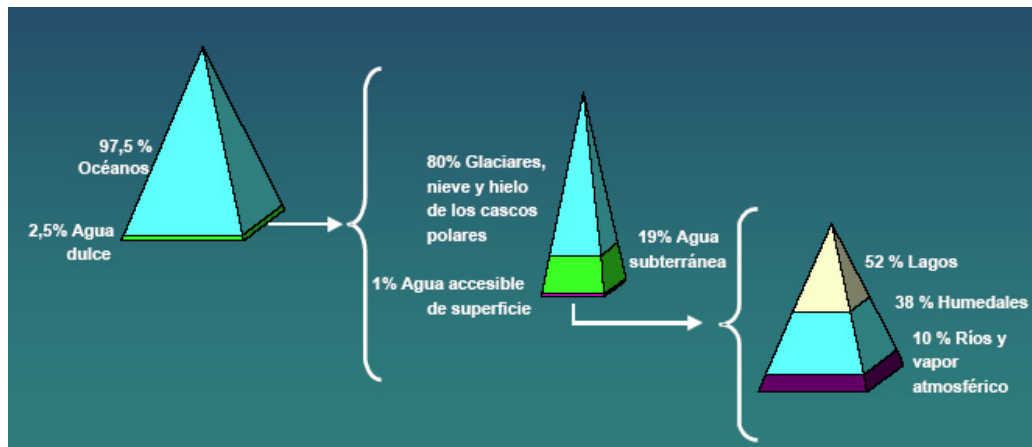


Figura 2. Distribución del agua en el planeta.⁹

Se ha de tener en cuenta la distribución de precipitaciones en el mundo, además de considerar el efecto climático y sus devastadoras consecuencias, que presentan un mayor impacto en los países en vías de desarrollo. La Figura 3 muestra la distribución mundial de las precipitaciones promediadas desde la década de los años 60 hasta la década de los años 90. Las regiones con mayores problemas de acceso a agua potable presentan diferentes tasas de precipitación. Mientras que regiones como América Latina o el África sub-sahariana presentan abundantes precipitaciones, amplias regiones de Asia y, sobre todo, el norte del continente africano, cuentan con tasas bajas o muy bajas de precipitaciones anuales. Se puede establecer una relación directa entre la pobreza y las áreas áridas del planeta.

⁹ Fernández, A., Mortier, C. “Evaluación de la Condición del Agua para Consumo Humano en Latinoamérica” en SOLARSAFEWATER: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua, Blanco, J., Blesa, M. A. (eds.), 2005, Escuela de Posgrado UNSAM, Buenos Aires.

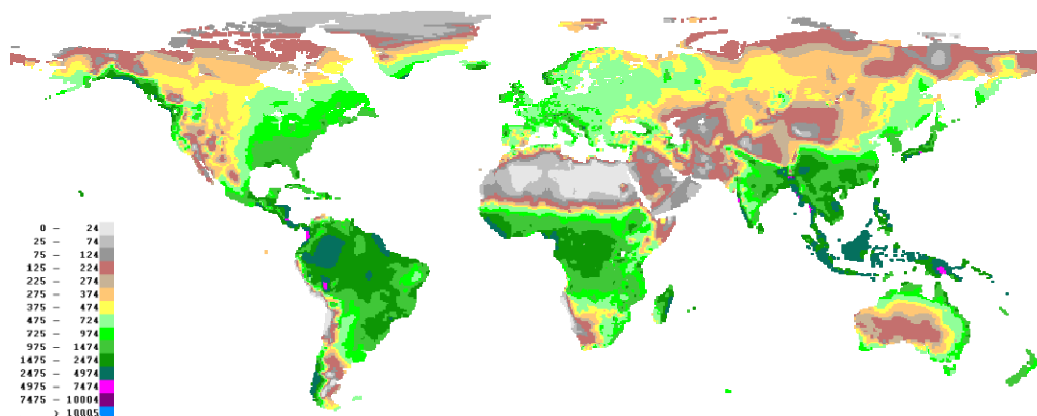


Figura 3. Precipitaciones anuales medias totales en el mundo (mm).

(Fuente: Servicio del Medioambiente y los Recursos Naturales de la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación –FAO-SDRN–, <http://www.fao.org>).

Otro aspecto relacionado y que se ha de considerar, es el estrés hídrico del agua disponible en las diferentes regiones del mundo. La **Figura 4** muestra la situación del estrés del agua en el mundo, expresada en función de un indicador que relaciona el consumo de agua anual para uso humano respecto al total disponible, excepto una cantidad estimada para la sostenibilidad medioambiental. Valores del indicador inferiores a 0,3 implican un bajo estrés hídrico, mientras que un valor de este indicador superior a 0,7 supone que los sistemas acuáticos sufren cierto grado de degradación, con riesgo de sufrir daños irreversibles en caso de aumentar la explotación de agua.⁴

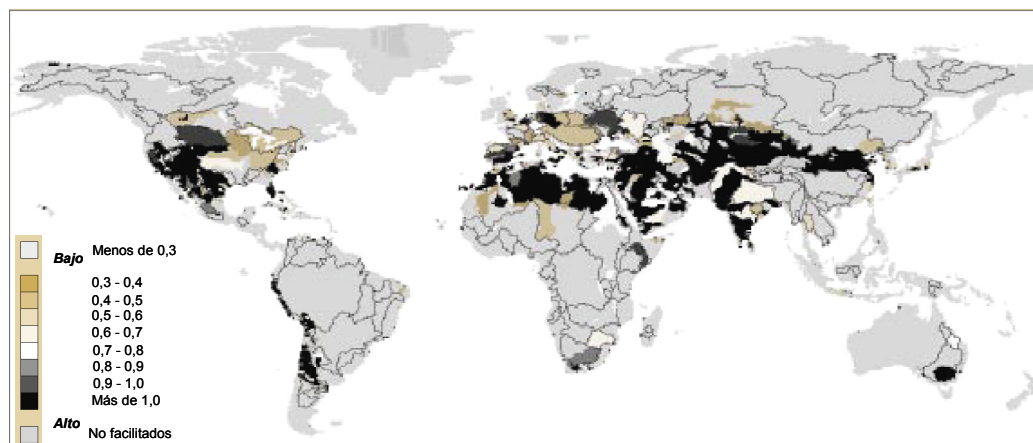


Figura 4. Estrés del agua por regiones en el mundo. (Indicador medioambiental: 0–1).⁴

Muchas de las zonas con gran estrés hídrico se corresponden con áreas muy industrializadas o donde se sobreexplotan los ríos para lograr un gran desarrollo agrícola. Sin embargo, una gran parte de las regiones con problemas de acceso a agua potable, como son América Latina, parte de Asia o el África sub-sahariana, presentan

bajos índices de estrés hídrico, lo que indica la factibilidad del suministro de agua potable en dichas regiones, si se dispone de una tecnología adecuada y sostenible.

Una vez analizada someramente la compleja relación entre los recursos del agua y la pobreza, el hambre y la distribución poblacional rural o urbana, así como el crecimiento exponencial de la población y la sostenibilidad medioambiental, se pone de manifiesto el gran reto que supone alcanzar la Meta 10 dentro de los Objetivos de Desarrollo del Milenio para el año 2015.^{10,11} Sin embargo, su consecución no es utópica si partimos de la base de que existe una concienciación global del problema y de que gran parte de las áreas con problemas de acceso al agua potable se corresponden con zonas de bajo estrés hídrico, con aguas generalmente poco contaminadas y con una tasa de precipitaciones considerable. No obstante, hay que tener en cuenta que una buena parte de la población sin acceso a agua saneada corresponde al ámbito rural, donde la implantación de infraestructuras es más complicada en comparación con el ámbito urbano, pero donde las fuentes de agua a las que se puede tener acceso serían mayoritariamente aguas de lluvia y aguas subterráneas, de pozo o de manantial, que son recursos hídricos que, generalmente, necesitan de tratamientos simples para su potabilización.¹²

2. TRATAMIENTOS DEL AGUA.

2.1. Bacterias como indicadores de contaminación.

La salud humana puede verse seriamente comprometida por la presencia de microorganismos patógenos, virus o parásitos en el agua de consumo o, indirectamente, por falta de saneamiento adecuado. Según datos de Naciones Unidas y de la OMS, cerca de la mitad de las personas que viven en países en vías de desarrollo sufren enfermedades asociadas al agua, lo que lleva a que más de la mitad de las camas de hospital en todo el mundo estén ocupadas por este motivo.^{4,5} El consumo de agua contaminada sirve como vehículo de transmisión de enfermedades víricas como la hepatitis A, que supone cerca del 90% de las enfermedades virales transmitidas por el agua y de la que cada año se diagnostican 1,5 millones de nuevos casos clínicos. A una de las principales causas generales de mortalidad en el mundo, como es la diarrea bacteriana causada por contaminación fecal de agua de consumo, hay que unir otras muchas infecciones originadas por la presencia de microorganismos patógenos en el agua, como el tracoma, por la que unos 6 millones de personas sufren ceguera y más de 150 millones de personas necesitan tratamiento en todo el mundo. La contaminación del agua también es la causa de epidemias de origen bacteriano como el cólera, que afecta a una buena parte de los países de Latinoamérica desde la década de los años 90.^{2,4,5}

¹⁰ Fry, L. M., Mihelcic, J. R., Watkins, D. W. “*Water and Nonwater-Related Challenges of Achieving Global Sanitation Coverage*”, Environ. Sci. Technol., **2008**, 42, 4289–4304.

¹¹ Shannon, M. A., Bohn, P. W., Elimelech, M., Georgiadis, J. G., Mariñas, B. J., Mayes, A. M. “*Science and Technology for Water Purification in the Coming Decades*”, Nature, **2008**, 452, 301–310.

¹² “*Progress on Sanitation and Drinking-Water*”, **2010**, WHO, Geneva/UNICEF, New York.

Existen diversas legislaciones y normativas a nivel internacional como las Guías para la calidad del agua potable elaboradas por la OMS (WHO GDWQ), la directiva 98/83/CE de la Unión Europea o la normativa en los Estados Unidos a través de la Agencia de Protección Medioambiental (EPA), que establece o recomienda la calidad de agua de consumo desde un punto de vista microbiológico. La cantidad de microorganismos patógenos que pueden analizarse es enorme, y no siempre son fáciles de aislar, cultivar o caracterizar, por lo que se suelen utilizar microorganismos indicadores de contaminación, por lo general de contaminación fecal. Se establece que el agua es apta para su consumo si se encuentra exenta de microorganismos patógenos de origen intestinal, conocidos como entéricos.

Las bacterias son microorganismos de un tamaño en el rango de los micrómetros (por ejemplo, *Escherichia coli*: $0,5 \times 2 \mu\text{m}$). Se pueden clasificar de acuerdo a varios criterios, como son su morfología, las necesidades de O_2 que presentan para su desarrollo, o de acuerdo a una técnica de coloración que está relacionada con la estructura del revestimiento celular, la conocida como tinción diferencial de Gram y que es debida a los peptidoglicanos presentes en la pared celular que retienen ciertos reactivos químicos. Esta técnica permite diferenciar dos grandes grupos de bacterias según la respuesta a la tinción. Las bacterias gram-positivas presentan una gruesa pared celular constituida de peptidoglicano, mientras que las gram-negativas presentan una fina capa de peptidoglicano protegida por una membrana externa de lipopolisacáridos (Figura 5). El hecho de que las bacterias gram-negativas presenten dos membranas lipídicas entre las que se encuentra una fina pared celular de peptidoglicano, lleva a que este tipo de bacterias sea, por lo general, más resistente a antibióticos u otros agentes biocidas que, de otro modo, dañarían la membrana interna lipídica o la gruesa pared celular de peptidoglicano presente en las bacterias gram-positivas.¹³

¹³ Apella, M. C., Araujo, P. Z. “Microbiología de Agua. Conceptos Básicos” en SOLARSAFEWATER: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua, Blanco, J., Blesa, M. A. (eds.), 2005, Escuela de Posgrado UNSAM, Buenos Aires.

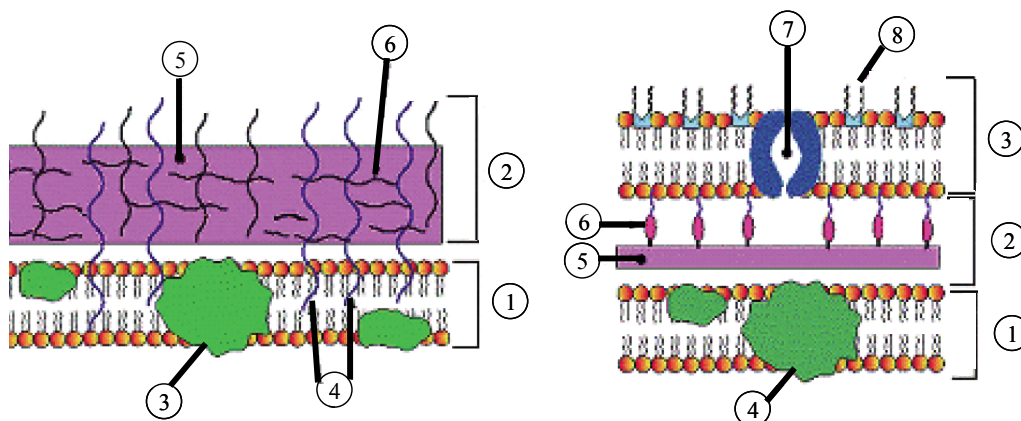


Figura 5. Cubiertas celulares bacterianas. Izquierda: Bacteria gram-positiva. 1-Membrana citoplasmática, 2-Pared celular, 3-Proteínas, 4-Ácido lipoteicoico, 5-Peptidoglicano, 6-Ácido teicoico. Derecha: Bacteria gram-negativa. 1-Membrana citoplasmática interna, 2-Espacio periplasmático, 3-Membrana externa, 4-Proteínas, 5-Peptidoglicano, 6-Lipoproteína, 7-Poro, 8-Lipopolisacáridos.¹³

Para evaluar la desinfección bacteriana se requiere conocer la población bacteriana de muestras acuosas. El crecimiento celular puede llevarse a cabo en el laboratorio a través del cultivo de los microorganismos, empleando medios de cultivo líquidos o sólidos, que pueden ser inespecíficos, selectivos para una especie o un tipo de microorganismo, o que pueden permitir diferenciar un tipo de bacteria frente a otras. El crecimiento bacteriano tiene lugar de forma exponencial, ya que una célula se divide en dos células hijas idénticas que volverán a dividirse sucesivamente mediante un proceso conocido como bipartición. El tiempo necesario para esta duplicación es variable para diferentes especies de microorganismos. Por ejemplo, la bacteria gram-negativa *Escherichia coli* (*E. coli*) presenta un tiempo de duplicación de unos 20 min en condiciones adecuadas de carácter fisicoquímico (pH, temperatura, etc) y de nutrientes en el medio. La temperatura óptima para el desarrollo de la mayoría de bacterias (mesófilas) se encuentra entre 30–40 °C, con una temperatura mínima en el intervalo de 15–20 °C y máxima en torno a 45 °C, mientras que el intervalo de pH óptimo para la mayoría de las bacterias (neutrófilas) es 5,5–8,0. El crecimiento bacteriano en condiciones ambientales óptimas posee 4 fases bien diferenciadas:

- *Fase de latencia o fase “lag”*, que corresponde a un periodo de adaptación de los microorganismos al medio de cultivo, en el que el número de células no aumenta.
- *Fase de crecimiento exponencial*, donde la reproducción celular corresponde al tiempo de duplicación propio de cada especie. Se mantiene hasta que aparece algún factor limitante (agotamiento de nutrientes, cambios en el entorno, etc).
- *Fase estacionaria*, en la que la velocidad de crecimiento disminuye hasta detenerse y las células viables comienzan un periodo de equilibrio.
- *Fase de muerte*, marcado por la disminución de células vivas.

El crecimiento de una población bacteriana puede medirse de acuerdo con diferentes métodos, si bien los dos más empleados son la turbidimetría para los medios de cultivo líquidos y el recuento visual en medio sólido. Los medios de cultivo líquidos o caldos suponen un medio de propagación y mantenimiento de los microorganismos a estudiar. En ellos se puede obtener la curva de crecimiento de un cultivo bacteriano puro, descrita por las cuatro fases características, midiendo la absorbancia de luz que atraviesa una muestra del cultivo en función del tiempo. Se suele trabajar con estos cultivos en tubos de ensayo protegidos con tapón de algodón o en matraces, en condiciones óptimas de incubación para la especie bacteriana a estudiar. A medida que el crecimiento bacteriano aumenta, el caldo se enturbia y la cantidad de luz absorbida por la muestra aumenta de manera proporcional a la carga bacteriana, de forma que para el seguimiento de la curva se emplea un espectrofotómetro en el que se selecciona una longitud de onda típicamente comprendida entre 490 y 660 nm (Figura 6).

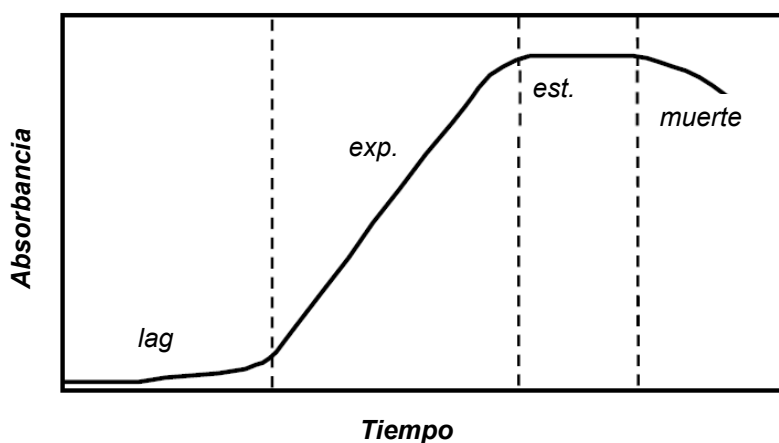


Figura 6. Curva de crecimiento bacteriano en la que se distinguen las cuatro fases características (“lag”, exponencial, estacionaria y muerte). Se representa la absorbancia de luz de un cultivo líquido genérico, proporcional al logaritmo decimal del número de bacterias N , respecto al tiempo.¹³

El medio sólido de cultivo se genera a partir del medio líquido por agregación de un agente solidificable, generalmente agar. El medio sólido se dispone en las denominadas placas Petri, donde cada célula bacteriana viable dará lugar a las denominadas colonias, masas visibles originadas por divisiones sucesivas de la célula madre (Figura 7). Tras la siembra de un volumen conocido de muestra líquida susceptible de contener bacterias y tras el periodo de incubación característico de la especie bacteriana objeto de estudio, se podrá conocer la carga bacteriana de la muestra a analizar. El resultado del recuento bacteriano lleva a expresar la carga bacteriana en forma de UFC mL^{-1} , esto es, como unidades formadoras de colonia por unidad de volumen de muestra.^{13,14}

¹⁴ Díaz, R., Gamazo, C., López-Goñi, I. (eds.), “Manual Práctico de Microbiología”, 1995, Masson, Barcelona.

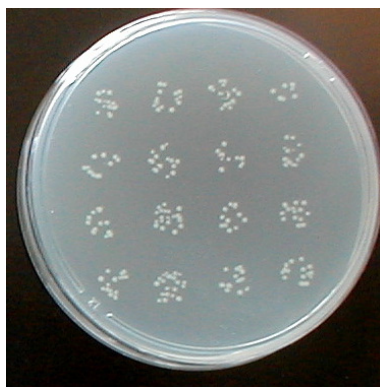


Figura 7. Medio agarizado sólido de cultivo dispuesto en placa Petri, sobre el que se ha producido el crecimiento bacteriano tras el periodo de incubación correspondiente a la bacteria en estudio (*E. coli* en este caso).

Entre los microorganismos presentes en las aguas,¹⁵ se han definido una serie de grupos de bacterias indicadoras de posible contaminación. Estas bacterias deben ser fáciles de aislar y de crecer en el laboratorio, ser relativamente inocuas y su presencia en el agua debe de estar relacionada con la de otros microorganismos patógenos más difíciles de identificar. Se consideran tres tipos de bacterias como indicadoras: coliformes fecales, aerobias mesófilas y pseudomonas. Las bacterias aerobias mesófilas son, en general, muy sensibles a los agentes de cloración y, por tanto, son indicadoras de la eficiencia en los tratamientos de potabilización de aguas urbanas. Por su parte, las pseudomonas son resistentes y cambiantes, señalando deterioro de la calidad del agua o una posible recontaminación. Por ello, las bacterias que resultan más interesantes de analizar son las coliformes fecales, porque señalan una contaminación reciente de heces o con material puesto en contacto con ellas, así como falta de limpieza. La única bacteria del grupo coliforme que es exclusivamente de origen fecal es *E. coli*, cuyo hábitat es el intestino del hombre y de animales de sangre caliente. La presencia de esta enterobacteria no supone necesariamente la existencia de patógenos en una muestra de agua, pero implica un riesgo elevado de que pudiesen estar presentes por compartir un hábitat común, como, por ejemplo, es el caso de la bacteria *Salmonella*. Debido a que la presencia de *E. coli* indica contaminación reciente, se suele usar como indicador complementario de contaminación fecal la bacteria *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Se trata de una bacteria muy resistente, con el mismo hábitat que *E. coli*, lo que hace de ella un marcador fiable. La gran mayoría de enfermedades son causadas por bacterias gram-negativas, debido a la estructura de su membrana externa, pero *E. faecalis* es una bacteria gram-positiva.^{13,14}

Para detectar y cuantificar las bacterias indicadoras en muestras reales se pueden aplicar técnicas de recuento bacteriano mediante siembra sobre medio de cultivo agarizado, o

¹⁵ Lutsenko, A., Palahniuk, V. (eds.), “*Water Microbiology: Types, Analyses and Disease-Causing Microorganisms*”, 2010, Nova Science Publishers Inc., New York.

por recuento en filtros de membrana que retienen bacterias a partir de volúmenes relativamente grandes de muestra, etc. Asimismo, se ha de destacar que existen ensayos bioquímicos para la identificación bacteriana y sistemas comerciales de identificación por *kits* para determinar la presencia/ausencia bacteriana, como por ejemplo los ensayos ReadyCULT® Coliforms, de Merck, para la detección simultánea de bacterias coliformes totales y *E. coli* en agua, por cambio de color. Por otra parte, en diversos laboratorios se utiliza lo que se conoce como *cultivos tipo* de microorganismos, que se emplean como control y para su caracterización comparativa. Se pueden adquirir de modo seguro y conservados mediante liofilización a través de diversos laboratorios oficiales, como la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) en España, u otras muchas a nivel internacional: European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC), American Type Culture Collection (ATCC), Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB), etc.

2.2. Tratamientos de mejora de la calidad del agua en el ámbito doméstico.

Existen diversas técnicas de tratamiento de agua para consumo humano empleadas a gran, media y pequeña escala, según su objetivo. Dadas las características de aislamiento de una gran parte de la población mundial situada en regiones con problemas de abastecimiento de agua potable, las técnicas convencionales de tratamiento resultan de difícil aplicación. Sin embargo, la ebullición, la filtración, la cloración o la desinfección solar destacan como métodos viables para su empleo en áreas rurales a un nivel doméstico.

La OMS estima que el 94% de los millones de casos de diarrea anuales serían evitables con modificaciones en el abastecimiento de agua potable y la mejora en el saneamiento y en la higiene.² De este modo, se estima que las enfermedades diarreicas se reducirían un 25% al mejorar el sistema de abastecimiento de agua, un 32% al mejorar el saneamiento, un 45% con un simple lavado de manos y un 39% mediante el tratamiento del agua y su almacenamiento seguro a un nivel doméstico.

Si se consideran las medidas de abastecimiento del agua, tales como conexiones domésticas de agua a través de tuberías o pozos protegidos, se ha de remarcar que solamente en torno a la mitad de la población mundial tiene acceso a estos servicios. Su implantación o mejora, aparte de suponer unos gastos en infraestructuras difíciles de asumir, sobre todo en países en vías de desarrollo, se convierten en inviables en los grupos poblacionales más vulnerables, como pueden ser comunidades aisladas, sin recursos y en entornos rurales. Por otra parte, incluso llevando a cabo estas medidas de mejora y dependiendo de las condiciones locales, las fuentes de agua o el propio sistema de distribución pueden verse contaminados por infiltraciones de agua de escorrentía contaminada o por un deficiente servicio de saneamiento en el entorno, lo que puede llevar a una contaminación de origen fecal del agua. La mejora del saneamiento, por tanto, es un punto crítico y muy relacionado con la calidad

microbiológica del agua. El simple hecho de pasar de la defecación a la intemperie a sistemas sencillos de contención de la materia fecal conduce a una reducción drástica de la transmisión de enfermedades como cólera, diarrea, hepatitis A, disentería o parásitos, provenientes de la infiltración de aguas contaminadas o bien a través de insectos. En cuanto a la reducción en los casos de infecciones a través de un gesto tan sencillo como es lavarse las manos, hay que considerar que hacen falta intervenciones en el ámbito de la higiene, incluyendo educación y concienciación de la población, dado que a través de las manos sucias el agua potable puede ser objeto de contaminación fecal.^{2,4,5} Frente a estas propuestas para disminuir el desarrollo de enfermedades que implican modificaciones en los sistemas de saneamiento y en el abastecimiento y manejo del agua de consumo, otra solución sanitaria alternativa y comparativamente sencilla puede ser la actuación sobre las consecuencias en lugar de sobre las causas de la contaminación fecal del agua. Por ejemplo, es posible paliar la deshidratación corporal ocasionada por la diarrea. El tratamiento de rehidratación oral puede revertir la deshidratación en más del 90% de los casos, incluso en casos de diarrea severa causada por virus o cólera. Se trata de una medida relativamente barata para salvar vidas, pues un litro de solución rehidratante cuesta unos 6 euros, y desde la década de los años 70 hasta hoy ha salvado la vida de más de 40 millones de niños. Otra alternativa podría consistir en vacunas antivíricas, cuyo coste es de unos 60 euros por dosis en países desarrollados, si bien parece ser que Glaxo comercializa su vacuna por unos 7 euros en Brasil y, según los expertos, un precio ajustado podría estar en torno a 1 euro por dosis.¹⁶

Sin embargo, de todas las medidas contempladas por la OMS, el tratamiento del agua a nivel doméstico para reducir o eliminar la contaminación del agua de consumo, es la única de las soluciones que actúa sobre la raíz del problema. Por sí sola no es una alternativa, sino un complemento al resto de medidas descritas que actúan bien sobre los efectos de la contaminación (rehidratación y vacunas) o bien rompen el ciclo de la contaminación de origen fecal del agua. El tratamiento del agua a nivel doméstico es, por tanto, el punto en el que se están desarrollando los mayores esfuerzos por parte del programa impulsado por la OMS en 2005, y demuestra su utilidad incluso en los casos en que se dispone de infraestructuras de abastecimiento de agua, puesto que ya se ha comentado que, en función del entorno, existe el riesgo de contaminación hídrica.⁴ El tratamiento del agua, así como su almacenamiento seguro a un nivel doméstico, es lo que se conoce como **gestión del agua en el lugar de uso** (“*point-of-use*”, abreviadamente POU). Esta gestión de tratamiento y almacenamiento del agua se conoce también bajo las abreviaturas inglesas de HHWT o HWT o HWTS (“*household water treatment and safe storage*”). Bajo estos términos se pueden englobar una diversidad de métodos físicos y químicos relativamente sencillos para el tratamiento del agua, como son la ebullición, el empleo de desinfectantes clorados u otros desinfectantes químicos, la filtración, la floculación, el uso de lámparas ultravioletas, el

¹⁶ “*A Simple Solution*”, Time Europe Magazine (08/10/2006).

empleo de luz solar, etc. Desde mediados de la década de los años 90 han surgido numerosas publicaciones científicas donde se describen las bondades de estos métodos de bajo coste relativo,^{17,18} asociados a la mejora en la calidad microbiológica del agua y, por consiguiente, a la reducción drástica de enfermedades asociadas. Tales características conducen a que estas técnicas puedan ser utilizadas de manera eficaz por las poblaciones más vulnerables. No obstante, es necesario enfatizar que, en paralelo al desarrollo de estas técnicas, se viene haciendo especial hincapié por parte de distintas organizaciones y expertos, en la adecuada gestión del agua mediante un almacenamiento seguro de la misma, bien en la etapa de su transporte o bien una vez tratada. La OMS recomienda almacenar el agua en recipientes metálicos, plásticos o cerámicos, de boca estrecha y tapada, y provistos de un dispensador para evitar el contacto con elementos potencialmente contaminados como son las manos y diferentes utensilios. Asimismo, deben poder limpiarse fácilmente y su capacidad debe de ser acorde al volumen de agua tratada. Se recomienda el uso de recipientes modificados a partir de otros existentes en los hogares, como pueden ser vasijas de barro. No obstante, existen numerosos contenedores comerciales de muy bajo coste, con una capacidad de 15–20 L, como son el cubo de Oxfam (4 €), el contenedor CDC (5 €) o el bidón Jerry (1–5 €).^{2,19}

2.2.1. *Ebullición del agua.*

La ebullición o, simplemente, el calentamiento del agua se han utilizado para desinfectar agua desde tiempos inmemoriales y, de hecho, es la técnica de acondicionamiento más extendida. Se trata de una práctica efectiva para destruir toda clase de patógenos presentes en el agua y se puede aplicar a cualquier tipo de aguas (turbias, con compuestos disueltos, etc). La OMS, a través de sus guías para la calidad del agua potable, recomienda calentar el agua hasta ebullición, lo que ya es síntoma de que la temperatura alcanzada es suficientemente alta, aunque hay organizaciones como el CDC (*“Centers for Disease Control and Prevention”*, www.cdc.gov), que recomiendan mantener estas condiciones de alta temperatura durante 1–5 min para asegurar la destrucción de los agentes patógenos. Si bien la ebullición es el método térmico más efectivo, aplicar temperaturas de pasteurización en torno a 60 °C durante unos 30 min permite reducir drásticamente la cantidad de patógenos pero, al contrario de la ebullición, no existen pruebas físicas para el usuario de que el proceso de calentamiento sea el adecuado. El agua tratada térmicamente debe consumirse, preferiblemente, dentro del mismo día debido a posibles procesos de recontaminación del agua. El volumen de agua tratada es limitado, generalmente debido a la reducida

¹⁷ Oates, P. M., Shanahan, P., Polz, M. F. *“Solar Disinfection (SODIS): Simulation of Solar Radiation for Global Assessment and Application for Point-of-Use Water Treatment in Haiti”*, Water Res., **2003**, 37, 47–54.

¹⁸ Kuo, J., Kanada, M. *“Disinfection and Antimicrobial Processes”*, Water Environ. Res., **2007**, 79, 1474–1495.

¹⁹ *“Preventing Diarrheal Disease in Developing Countries: Safe Storage of Drinking Water”*, **2009**, CDC/USAID, Atlanta.

capacidad de los recipientes habitualmente presentes en el hogar. Sin embargo, la gran limitación de esta técnica, aparte del riesgo de accidentes por quemaduras, sobre todo en niños, es la necesidad de materiales combustibles como la madera o el fuel, no siempre disponibles o asequibles. Se estima que para hervir un litro de agua es necesario un kilogramo de madera, por lo que ello conlleva una insostenibilidad económica y medioambiental en relación a otras técnicas más avanzadas de tratamiento, que han demostrado su utilidad en la mejora de la calidad microbiológica del agua y que a continuación se describen.^{20,21}

2.2.2. *Sedimentación y coagulación-floculación.*

Más que métodos de desinfección propiamente dichos, se trata de técnicas de pretratamiento complementarias a otros métodos domésticos. Estas técnicas permiten eliminar materia orgánica y partículas en suspensión, lo que las hace compatibles con métodos como la cloración, y permiten reducir la turbidez del agua, lo cual resulta adecuado para su combinación con la desinfección mediante radiación. La sedimentación es una técnica barata, puesto que sólo requiere de contenedores del agua como cubos u ollas, pero requiere el empleo de largo tiempo. Se recomiendan periodos de 2–24 h para reducir la turbidez del agua. La reducción de la carga de patógenos por efecto de la gravedad no es destacable, debido al tamaño microscópico de los virus y de las bacterias, en la escala de los nanómetros y los micrómetros, respectivamente, aunque permite la reducción de hasta un 90% de ciertos parásitos o huevos de gusanos helmintos. La reducción de turbidez y patógenos presentes en el agua puede favorecerse mediante la coagulación y floculación, gracias a la presencia de cationes que favorecen la precipitación de materia orgánica disuelta y coloidal, así como de microorganismos que se asocian con partículas de mayor tamaño, lo que permite aumentar su eliminación física. Existen preparados comerciales, no siempre accesibles en áreas rurales, y otros coagulantes naturales usados ancestralmente y de fácil acceso a un nivel doméstico, como son extractos de semillas o de plantas tropicales como la moringa o ciertos compuestos inorgánicos habituales como la cal, alumbre, etc. No obstante, para un uso correcto de floculantes, es necesario un cierto grado de aprendizaje por parte del usuario.^{22,23}

²⁰ “Household Water Treatment Options in Developing Countries: Boiling”, 2009, CDC/USAID, Atlanta.

²¹ Clasen, T. F., Thao, D. H., Boisson, S., Shipin, O. “Microbiological Effectiveness and Cost of Boiling to Disinfect Drinking Water in Rural Vietnam”, Environ. Sci. Technol., 2008, 42, 4255–4260.

²² “Preventing Diarrheal Disease in Developing Countries: Simple Options to Remove Turbidity”, 2009, CDC/USAID, Atlanta.

²³ “Household Water Treatment and Safe Storage Following Emergencies and Disasters - South Asia Earthquake and Tsunami”, 2005, WHO, Geneva.

2.2.3. Filtración.

Se trata de un método físico de tratamiento del agua que permite obtener excelentes resultados al reducir la turbidez del agua y sus niveles de microorganismos patógenos. Algo tan sencillo como filtrar el agua desde un recipiente a otro a través de telas ha demostrado reducir los casos de cólera por la retención de bacterias unidas a seres vivos o a partículas de cierto tamaño. A un nivel práctico destacan los filtros de arena, dentro de los cuales se incluyen los denominados biofiltros y los filtros cerámicos. Los filtros de arena están constituidos por un lecho de arena del orden de un metro de espesor dispuesto sobre un lecho de grava de unos 30 cm, provisto de un sistema de drenaje adecuado. En el caso de los filtros lentos de arena, los procesos biológicos son importantes dado que los filtros forman una fina película de microorganismos que atrapan y destruyen patógenos y gran parte de la materia orgánica. Son fáciles de usar, pero no pueden eliminar turbidez elevada, y el flujo de agua obtenido es relativamente lento si no se emplean grandes superficies. Asimismo requieren una limpieza periódica, dado que acumulan material particulado. Los filtros cerámicos, por su parte, presentan pequeños poros que sirven para retener microorganismos por exclusión de tamaño. En los países en vías de desarrollo se fabrican de manera local en forma de recipiente de arcilla, a los se adapta un sistema de drenaje. Presentan las ventajas de los filtros de arena, siendo fáciles de usar, efectivos para reducir materia orgánica y enfermedades asociadas a patógenos, resultando económicos. No obstante, requieren tecnología para su fabricación y, aparte del problema de su relativa fragilidad, los flujos de agua suministrados son muy bajos por la acumulación de materia en los poros, requiriendo una limpieza manual regular.^{24,25}

2.2.4. Cloración.

La cloración es el método químico de desinfección más extendido y consiste en la adición de cloro al agua almacenada en un recipiente protegido. Puesto que la adición directa de cloro es complicada por tratarse de un gas irritante y tóxico, el proceso se efectúa a través de sustancias en solución (hipoclorito sódico) o en fase sólida (hipoclorito cálcico) que, una vez puestas en contacto con el agua, liberan cloro libre que inactiva los microorganismos patógenos de una manera muy efectiva. Una dosis de pocos miligramos por litro y un tiempo de contacto de unos 30 min son suficientes para eliminar más del 99,9% de las enterobacterias y los virus, si bien algunos patógenos como ciertos protozoos y otros microorganismos se muestran resistentes al poder oxidante del cloro. Este método, a diferencia de la ebullición o la desinfección solar, presenta acción bactericida prolongada en el tiempo gracias a la presencia de cloro

²⁴ Leal, M. T. “Tecnologías Convencionales de Tratamiento de Aguas y sus Limitaciones” en SOLARSAFEWATER: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua, Blanco, J., Blesa, M. A. (eds.), **2005**, Escuela de Posgrado UNSAM, Buenos Aires.

²⁵ Sobsey, M. D., Stauber, C. E., Casanova, L. M., Brown, J. M., Elliot, M. A. “Point of Use Household Drinking Water Filtration: A Practical, Effective Solution for Providing Sustained Access to Safe Drinking Water in the Developing World”, Environ. Sci. Technol., **2008**, 42, 4261–4267.

residual en el agua tratada. No obstante, aparte de la modificación en el olor y el sabor del agua, esta técnica presenta ciertas limitaciones, como son el requerimiento de cierta formación del usuario para manejar los reactivos químicos y la necesidad de preparar una disolución del 1% de cloro que se adicionará en mayor o menor cantidad en función de la materia orgánica presente en el agua.²³ Para que el efecto bactericida remanente sea efectivo, la concentración de cloro residual debería ser de unos $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ al cabo de unos 30 min, aunque dada la dificultad en la determinación de esta concentración, la detección de un ligero olor a cloro se convierte en indicativa de su presencia en cantidad suficiente. Por otra parte, se ha descrito la generación de subproductos halogenados originados por la reacción del cloro con materia orgánica presente en el agua de forma habitual, como el material húmico procedente del suelo. De entre estas especies perjudiciales destacan los trihalometanos y las cloraminas, de probada toxicidad para el ser humano. La presencia de subproductos halogenados se ve aumentada en el caso de la reclusión del sistema. La generación de estas especies depende de factores como son la concentración de la materia orgánica, la dosis de cloro, el tiempo de reacción, o la temperatura y el pH del agua. A pesar de todas sus limitaciones, la utilización de este método ha sido promovida por organizaciones como el CDC norteamericano, por su efectividad bactericida, su bajo coste relativo y la cantidad de agua tratada suministrada.²⁶

2.2.5. Desinfección solar.

El efecto combinado de la radiación ultravioleta (UV) en la región UV-A ($315 \text{ nm} < \lambda < 380 \text{ nm}$) y el aumento de temperatura asociado a la exposición solar, pueden emplearse para la mejora ostensible de la calidad microbiológica del agua. Esto se consigue por la exposición continuada del agua a la radiación solar mediante botellas de plástico transparente a la radiación. Esta técnica, conocida como SODIS (“*solar disinfection*”), es sencilla en su uso, tal y como se muestra en la [Figura 8](#), y no requiere de gran desembolso económico, pues sólo requiere botellas de pequeño volumen ($0,5\text{--}3 \text{ L}$) típicamente de PET. La exposición del agua contenida en estas botellas a unas 6 h de sol (o bien periodos de dos días en días nublados) permite la drástica reducción de hasta más del 99,9% de los virus, enterobacterias y parásitos presentes en el agua, gracias a un efecto sinérgico de la radiación UV y la temperatura (se alcanzan fácilmente los 55°C en su interior), con la ventaja de que no se generan subproductos tóxicos durante el proceso. Las limitaciones de este tratamiento son la dependencia de las condiciones ambientales y el volumen limitado de las botellas de plástico para que la radiación UV y el aumento de temperatura sean efectivas ($1,5 \text{ L}$ es el volumen óptimo), lo que conlleva la necesidad de emplear y gestionar cierto número de botellas al día. Por otra parte, para que el tratamiento sea eficaz, el agua no debe presentar un elevado grado de turbidez (< 30 unidades nefelométricas de turbidez, NTU). En caso de ser necesario, el

²⁶ Black & Veatch Corporation. “*White’s Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants*”, 5th ed., 2010, Wiley, Hoboken.

proceso puede requerir un tratamiento previo de sedimentación para que la radiación UV pueda penetrar de forma efectiva en el agua. Una modificación de este método, que lo convierte en menos sensible a factores como la turbidez y sustancias que puedan absorber la radiación UV, consiste en emplear botellas de paredes oscuras y/o sencillos reflectores solares, lo que permite alcanzar temperaturas de pasteurización durante horas, con la consiguiente eliminación de la práctica totalidad de los patógenos de origen entérico. El agua tratada por la técnica SODIS debe consumirse en un corto plazo, preferiblemente en el mismo día de su tratamiento, para evitar la posible recontaminación por patógenos.^{27,28}

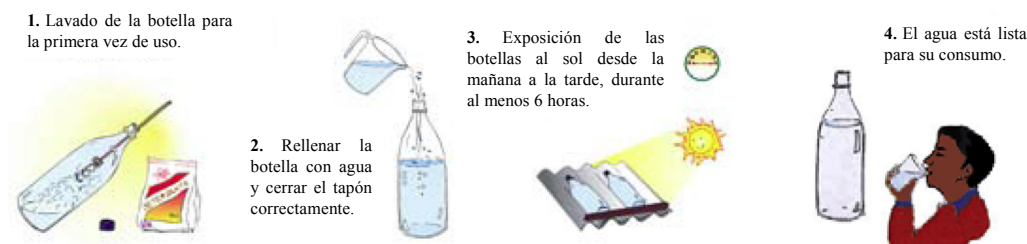


Figura 8. Aplicación del método SODIS para la desinfección de agua con luz solar. (Fuente: www.sodis.ch).

2.2.6. Otras alternativas de tratamiento de agua a nivel doméstico.

Existen otras técnicas para el tratamiento de agua en el lugar de uso, si bien su empleo no está extendido o no es comparable al de los métodos anteriormente descritos debido a sus importantes limitaciones. Se puede destacar el empleo de diversos derivados clorados, como por ejemplo la monoclорamina que, en comparación con la cloración, genera menos subproductos potencialmente nocivos para la salud, pero cuyo poder desinfectante es muy inferior al del cloro y presenta el inconveniente de ser una fuente de amoníaco. El ozono, por su parte, es un efectivo agente desinfectante por tratarse de un fuerte oxidante pero, debido a su enorme inestabilidad, se hace necesaria su generación *in situ* mediante aparatos ozonizadores, lo que hace económicamente inviable su uso a nivel doméstico. Por otra parte, hay que destacar los sistemas basados en lámparas de luz ultravioleta. La acción bactericida de esta técnica se basa en el daño del material genético celular producido por la radiación UV a longitudes de onda óptimas, que para virus y bacterias corresponde a 254 nm (UV-C, $190\text{ nm} < \lambda < 280\text{ nm}$),²⁹ si bien existen patógenos como ciertos protozoos que se muestran más resistentes. Al ser un método físico no introduce reactivos químicos ni genera subproductos tóxicos durante el tratamiento y la acción bactericida es extremadamente

²⁷ “Managing water in the home: accelerated health gains from improved water supply”, 2009, WHO, Geneva.

²⁸ McGuigan, K. G. “Solar Disinfection of Drinking Water: Saving Lives with Sunlight”, 2006, EPA Newsletter, European Photochemistry Association. (<http://www.photochemistry.eu>).

²⁹ Oppenländer, T. “UV Disinfection” en Photochemical Purification of Water and Air, 2003, Wiley-VCH, Weinheim, pp. 279–293.

rápida, del orden de segundos, aunque muy localizada. Esto es debido al limitado poder de penetración de este tipo de radiación en el agua natural, lo que hace que sea ineficaz para tratar aguas turbias o con ciertos constituyentes disueltos que absorben la radiación UV. Aparte del riesgo de recontaminación, en el caso de dosis de radiación insuficientes puede producirse un recrecimiento bacteriano por mecanismos de reparación celular. En caso de un mal uso del equipo pueden existir ciertos riesgos para la salud de los operarios y, por otra parte, esta técnica requiere el suministro de corriente eléctrica para su funcionamiento, aunque el consumo de las modernas lámparas UV es pequeño y se puede suplir con un sencillo panel solar de bajo coste relativo. Con objeto de evitar la merma de su efectividad, el sistema necesita una limpieza regular, sobre todo en el caso de que la lámpara se introduzca en el interior del agua a tratar. Por otra parte, el tiempo de vida de las lámparas es limitado (en torno a 6–9 meses de uso continuado), lo que implica que han de ser sustituidas periódicamente.^{27,29,30}

2.2.7. Comparación entre métodos de tratamiento de agua en el lugar de uso.

Según un estudio de Sobsey *et al.* sobre la reducción de la carga de patógenos en agua tratada por diferentes técnicas aplicadas a un nivel doméstico,²⁵ la utilización *in situ* de los diferentes métodos de tratamiento por parte de usuarios relativamente inexpertos permitió una reducción de tres órdenes de magnitud en la carga de patógenos en el caso de la cloración, seguida del método SODIS y la filtración con filtro cerámico (Tabla 4).

Tabla 4. Estimación de la reducción de patógenos por diferentes técnicas de tratamiento doméstico *in situ* del agua.²⁵

<i>Técnica de tratamiento</i>	<i>Patógeno</i>	<i>Reducción (log)</i>
Filtración (filtro cerámico)	Bacterias	2
	Virus	0,5
	Protozoos	4
Filtración (biofiltro de arena)	Bacterias	1
	Virus	0,5
	Protozoos	2
SODIS	Bacterias	3
	Virus	2
	Protozoos	1
Cloración	Bacterias	3
	Virus	3
	Protozoos	3

³⁰ Jungfer, C., Schwartz, T., Obst, U. “UV-Induced Dark Repair Mechanisms in Bacteria Associated with Drinking Water”, *Water Res.*, **2007**, *41*, 188–196.

No obstante, dichos autores consideran la filtración como un sistema más adecuado en comparación con la cloración y la desinfección solar en función, no sólo del criterio microbiológico, sino de otros como la cantidad de agua suministrada, su calidad microbiológica, la facilidad de uso, los costes asociados o la necesidad y accesibilidad de ciertos suministros para llevar a cabo los procesos de tratamiento. Utilizando un sistema de puntuación basado en las ventajas/inconvenientes de los distintos métodos de acuerdo a dichos criterios y asociando un valor de 1 a aquellos criterios que suponen un punto poco ventajoso para el tratamiento y un valor de 3 para puntos ventajosos de la técnica, realizan una comparación entre las técnicas más importantes disponibles hoy en día. Así por ejemplo, si se consideran los costes asociados, los autores asignan una puntuación en función del coste por litro de agua producido: 1 para más de 0,01 €/L, 2 para 0,01–0,001 €/L y 3 para menos de 0,001 €/L (asumida la paridad euro-dólar). Los datos se muestran en la [Tabla 5](#).

Tabla 5. Comparación de diferentes técnicas de tratamiento doméstico de agua según diversos criterios. Asignación relativa: 1 – poco ventajoso, 3 – muy ventajoso.

<i>Técnica</i>	Cantidad	Calidad	Facilidad de uso	Coste	Suministros	Total
Filtración (f. cerámico)	2	3	2	3	2	12
Filtración (biof. arena)	3	3	2	2	3	13
SODIS	1	1	1	3	3	9
Cloración (vía líquida)	3	1	3	3	1	11
Cloración (vía sólida)	3	1	3	2	1	10

Sobsey *et al.* consideran que la filtración a través de arena permite obtener grandes cantidades de agua de alta calidad microbiológica por un precio muy ajustado. Sin embargo, el uso de los filtros cerámicos artesanales lleva a reducir la turbidez un 90% y la carga bacteriana entre un 60–90%.²⁷ Los sistemas de filtración que permiten obtener aguas con cargas prácticamente nulas de microorganismos patógenos corresponden a equipos comerciales de coste relativamente elevado, como son los filtros cerámicos conocidos como “*candle*”, que constan de filtros cilíndricos y huecos en forma de bujía, con especificaciones exactas en el tamaño de poro. Los sistemas filtrantes de este tipo permiten obtener flujos de agua saneada relativamente elevados en condiciones óptimas, pero disminuyen considerablemente con el uso debido a la acumulación de impurezas y precisan una limpieza periódica, siendo además necesario el suministro de filtros cuando estos se rompen.²⁷ Por otra parte, de acuerdo con criterios de la OMS, la cloración permite obtener una alta eficacia en la eliminación de patógenos pero requiere operarios con ciertas nociones para llevar a cabo el proceso de tratamiento de forma eficaz, mientras que la desinfección solar se considera realmente fácil de llevar a cabo.^{23,27} Siguiendo esta serie de consideraciones elementales, y partiendo de la base de que el proceso de ebullición no es económica ni medioambientalmente sostenible en comparación con la desinfección solar y la cloración,²¹ los dos últimos métodos unidos

a un almacenamiento seguro del agua tratada, se pueden considerar como los más sostenibles y robustos para el tratamiento de agua a nivel doméstico en áreas rurales deprimidas económicamente. La cloración permite obtener, en general, una mayor calidad microbiológica del agua tratada respecto a la técnica SODIS, pero introduce la necesidad de reactivos químicos, que han de ser suministrados regularmente al usuario de manera efectiva para evitar la interrupción en el uso de esta técnica. Sin embargo, la desinfección solar supera estas limitaciones y, además de no usar productos clorados ni otras especies químicas, cuenta con la importante ventaja de que el principio en el que se basa es la utilización de la radiación solar, un recurso muy abundante, inagotable y sin coste asociado como materia prima.

En el [apartado 1](#) se analizaba la situación del acceso al agua potable en el mundo. En líneas generales, se destacaba que las regiones más vulnerables corresponden a zonas deprimidas económicamente, con elevadas tasas de natalidad y con una importante población rural a la que resulta difícil suministrar agua a través de infraestructuras. En contraposición, en gran parte de estas regiones, los niveles de estrés hídrico y de contaminación de aguas son relativamente bajos. Si consideramos otro factor, como es la distribución de la irradiación solar a nivel mundial ([Figura 9](#)), se puede observar que la mayor parte de las regiones con problemas de acceso a agua potable se sitúan en zonas muy soleadas del planeta, como es el caso de una buena parte del continente asiático, el continente africano y Latinoamérica.

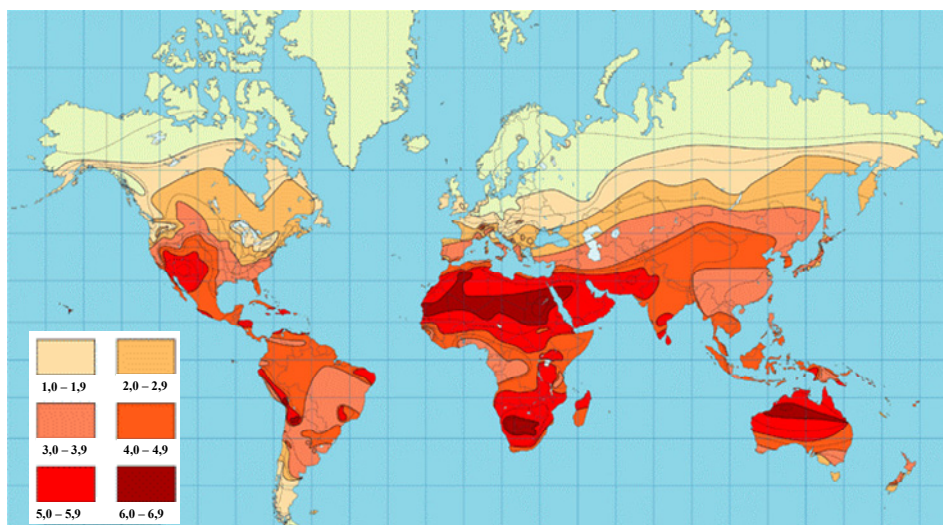


Figura 9. Dosis de radiación solar media en el mundo (Q , $\text{kWh m}^{-2} \text{ día}^{-1}$).³¹

Si se analiza la radiación solar como recurso, la irradiancia media que llega a la tierra en el exterior de la atmósfera es de 1367 W m^{-2} , valor que se conoce como constante

³¹ www.SunWize.com (10/2005).

solar. La irradiancia sobre la superficie de la tierra en un día soleado puede alcanzar valores de algo más de 1000 W m^{-2} , si bien la media anual sobre una superficie horizontal varía desde unos 100 W m^{-2} en zonas polares a unos 300 W m^{-2} en zonas desérticas. Del valor de la irradiancia, apenas un 4,5% corresponde a radiación UV de $\lambda > 300 \text{ nm}$, mientras que la región visible ($380 \text{ nm} < \lambda < 780 \text{ nm}$) supone un 43% y el resto hasta el total corresponde a la región de radiación infrarroja ($\lambda > 780 \text{ nm}$).^{29,32} El 70% de la población mundial y gran parte de la población con problemas de abastecimiento de agua vive entre las latitudes 40° N y 35° S , dentro de lo que se conoce como la “franja solar”, donde la dosis de radiación acumulada anual es muy elevada (Figura 9), con un valor diario promedio de unos $2,2 \text{ kWh m}^{-2}$. Para tomar cierta perspectiva de la potencialidad de la energía solar como recurso para gran parte de la población en el mundo, sirva como dato que el consumo total de energía a nivel mundial en el año 2000, de acuerdo con el Departamento de Energía de los Estados Unidos (DOE), correspondió a 381,9 Quads, lo que equivale a aproximadamente unos $1,1 \times 10^{14} \text{ kWh}$. Llevando a cabo unos cálculos sencillos, sobre un área aproximada de 50.000 km^2 (lo cual corresponde únicamente a una décima parte de la superficie de España) a una latitud como la española, incide una energía equivalente al consumo mundial.

2.3. Tecnologías fotoquímicas avanzadas de oxidación aplicadas al tratamiento de agua en el lugar de uso.

El desarrollo de nuevas tecnologías basadas en el uso de la radiación solar puede permitir superar las limitaciones técnicas y de calidad microbiológica asociadas a la técnica SODIS y al resto de técnicas de tratamiento de agua en el lugar de uso, aprovechando sus innegables ventajas. A la vista de la gran disponibilidad de radiación solar, este recurso natural puede (y debe) convertirse en la llave hacia la solución de los problemas hídricos en el mundo, sobre todo en las regiones con problemas de abastecimiento de agua potable. El objetivo de la utilización de radiación solar en la desinfección de agua sería proporcionar alternativas robustas y sostenibles a nivel técnico y económico para el tratamiento de agua en el lugar de uso, orientadas especialmente a las poblaciones más vulnerables. En este sentido, hay que considerar los denominados procesos avanzados de oxidación (AOPs, “*Advanced Oxidation Processes*”). Se trata de procesos fisicoquímicos que involucran la formación de especies oxidantes intermedias inestables, de manera que se aprovecha su alta reactividad en diferentes aplicaciones.³³ Las especies transitorias generadas están basadas, por lo general, en el oxígeno y se conocen como especies reactivas del oxígeno o ROS (*Reactive Oxygen Species*). Se emplean para la oxidación de sustratos químicos, lo que permite su aplicación a procesos de detoxificación, purificación o remediación.

³² Leifer, A. “*The Kinetics of Environmental Aquatic Photochemistry*”, **1988**, ACS, Washington.

³³ Asano, T., Burton, F. L., Leverenz, H. L., Tsuchihashi, R., Tchobanoglous, G. “*Removal of Residual Trace Constituents*” en Water Reuse, Hager, L. S. (ed.), **2007**, McGraw-Hill, New York.

Por ello, estas técnicas se emplean en el tratamiento de aguas y, en el ámbito que nos ocupa, pueden aplicarse a la desinfección.²⁶ La generación de las especies intermedias oxidantes se produce a través de catalizadores o de oxidantes auxiliares como el ozono o el peróxido de hidrógeno, y puede llevarse a cabo mediante *procesos no fotoquímicos* y *procesos fotoquímicos*. Es en estos últimos donde la radiación solar puede jugar un papel destacado, además de entroncar con una nueva filosofía imperante en la química actual, la denominada **química sostenible** o **química verde** (“*green chemistry*”).^{34,35} El nuevo enfoque implica algunos principios como son la reducción, eliminación o sustitución de reactivos químicos tóxicos y/o peligrosos, como es el caso de los productos clorados o el empleo de materias primas renovables y no extingüibles, como es la radiación solar.

2.3.1. *Procesos avanzados de oxidación (AOPs).*

Los procesos fotoquímicos avanzados de oxidación son ventajosos para el tratamiento de aguas con carga microbiológica o de contaminantes químicos, pues permiten su degradación a través de la generación de especies muy oxidantes.³⁶ Entre estas especies reactivas, destaca el radical hidroxilo (HO^\bullet). Se trata de un oxidante extremadamente potente, comparable al flúor (Tabla 6), y cuya generación está involucrada en la mayoría de dichos procesos.

Tabla 6. Potenciales redox de varios oxidantes, E^0 (V vs. ENH).^{32,37,38}

<i>Especie química</i>	<i>Potencial de reducción</i>
F_2	3,03
HO^\bullet	2,80
O_3	2,07
H_2O_2	1,78
$^1\text{O}_2$	1,70
Cl_2	1,36

Los procesos avanzados de oxidación de tipo fotoquímico requieren radiación UV–Visible como iniciador. El proceso Fenton fotoasistido o “foto-Fenton” es análogo al proceso Fenton, que es el proceso no fotoquímico más destacado para la producción de

³⁴ Anastas, P. T., Warner, J. C. “*Green Chemistry: Theory and Practice*”, **1998**, Oxford University Press, New York.

³⁵ Herrmann, J. M., Duchamp, C., Karkmaz, M., Bui Thu Hoai, Lachheb, H., Puzenat, E., Guillard, C. “*Environmental Green Chemistry as Defined by Photocatalysis*”, J. Hazard. Mater., **2007**, 146, 624–629.

³⁶ Nascimento, C. A. O., Teixeira, A. C. S. C., Guardini, R., Quina, F. H., Chiavone-Filho, O., Braun, A. M. “*Industrial Wastewater Treatment by Photochemical Processes Based on Solar Energy*”, J. Solar Energy Eng., **2007**, 129, 45–52.

³⁷ Hager, D. G., “*UV–Catalyzed Hydrogen Peroxide Chemical Oxidation of Organic Contaminants in Water*”, Innovat. Hazard. Waste Treat. Technol., **1990**, 2, 143–153.

³⁸ Yates, S. F., Good, M. L., Brubaker, I. M. “*Cellulose Acetate Bound Photosensitizer for Producing Singlet Oxygen*”, US Patent 4986921, **1990**.

radical hidroxilo partiendo de peróxido de hidrógeno y sales ferrosas de manera que, al aplicar radiación luminosa, el proceso se convierte en catalítico respecto al hierro en estado de oxidación (II). Otros métodos destacados para producir HO^\bullet corresponden a la incidencia de radiación UV sobre diferentes sistemas acuosos, como el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ o el sistema O_3/UV .³⁹ Sin embargo, el método basado en radiación UV y TiO_2 (anatasa) como fotocatalizador ocupa un lugar destacado dentro de las técnicas avanzadas de oxidación y encuentra aplicación en el campo de la desinfección. El dióxido de titanio es un semiconductor sólido nanoparticulado, que requiere radiación UV de longitud de onda inferior a 390 nm para que, a nivel superficial, se produzcan fenómenos de reducción-oxidación que conducen bien a la oxidación directa de sustratos adsorbidos sobre las partículas de TiO_2 o bien a la oxidación indirecta de sustratos a través de la generación de especies oxidantes reactivas, entre las que destaca el radical hidroxilo.⁴⁰

El uso de reactivos químicamente limpios, como es el peróxido de hidrógeno, o el empleo de sistemas catalíticos en lugar de reacciones estequiométricas, resulta ventajoso y está de acuerdo con los principios de la “química verde”.³⁴ No obstante, muchos de los procesos avanzados de oxidación requieren el suministro continuo de reactivos oxidantes auxiliares como H_2O_2 , O_3 ó de sales de hierro (dependientes del pH del agua),⁴¹ lo que complica su aplicación generalizada en el lugar de uso. Sin embargo, en los últimos años, se han realizado avances significativos en la mejora de la calidad microbiológica del agua empleando TiO_2 . Esto es debido a las interesantes propiedades físico-químicas de las partículas de dióxido de titanio, como su elevada eficiencia de producción de HO^\bullet . El rendimiento cuántico operacional de generación de radical hidroxilo en medio acuoso es relativamente elevado para tratarse de un fotocatalizador heterogéneo ($\Phi_{\text{HO}^\bullet} \sim 0,05$, siendo Φ_{HO^\bullet} el número de radicales HO^\bullet producidos respecto al número de fotones absorbidos por el TiO_2).⁴² Por otra parte, la forma particulada del catalizador y su elevada superficie específica facilita la adsorción de sustratos y, por tanto, su oxidación. A esto hay que añadir su buena (foto)estabilidad y su bajo precio relativo (ca. 20 €/kg). En este sentido y a través de diversos sistemas basados en TiO_2 y en lámparas UV o en la radiación solar, se han descrito reducciones en la carga de patógenos de varios órdenes de magnitud hasta alcanzar incluso la desinfección, con mejoras de moderadas a altas de la calidad microbiológica del agua en comparación con la técnica SODIS.^{43,44,45} Hay que destacar que debido al pequeño tamaño de partícula

³⁹ Gottschalk, C., Libra, J. A., Saupe, A. “*Ozonation of Water and Waste Water: A Practical Guide to Understanding Ozone and Its Applications*”, **2009**, Wiley-VCH, Weinheim.

⁴⁰ Andreozzi, R., Caprio, V., Insola, A., Marotta, R. “*Advanced Oxidation Processes (AOP) for Water Purification and Recovery*”, Catal. Today, **1999**, 53, 51–59.

⁴¹ Álvarez, J. D., Gernjak, W., Malato, S., Berenguel, M., Fuerhacker, M., Yebra, L. J., “*Dynamic Models for Hydrogen Peroxide Control in Solar Photo-Fenton Systems*”, J. Solar Energy Eng., **2007**, 129, 37–44.

⁴² Oppenländer, T. “*Properties, Reactivity and Photochemistry of Auxiliary Chemicals*” en Photochemical Purification of Water and Air, **2003**, Wiley-VCH, Weinheim.

⁴³ Vidal, A., Díaz, A. I., El Hraiki, A., Romero, M., Muguruza, I., Senhaji, F., González, J. “*Solar Photocatalysis for Detoxification and Disinfection of Contaminated Water: Pilot Plant Studies*”, Catal. Today, **1999**, 54, 283–290.

del dióxido de titanio (típicamente 10–100 nm) y con el objeto de que el proceso de inactivación bacteriana sea de utilidad en la obtención de agua para el consumo humano, el fotocatalizador debe estar soportado. El empleo de lechadas del material implica favorecer los procesos de adsorción de materia orgánica, así como los efectos de dispersión de radiación (“*light scattering*”) lo que, junto con el poco poder de penetración de la radiación UV en la suspensión y la necesidad de separar el fotocatalizador tras el tratamiento, dificultarían llevar a cabo la aplicación en el punto de uso. Por otra parte, la cantidad de TiO_2 en suspensión necesario para obtener resultados satisfactorios en procesos de inactivación bacteriana es, por lo general, cuantitativamente elevada ($0,05\text{--}1,0\text{ g L}^{-1}$).⁴⁶ En este sentido se ha descrito la inmovilización del TiO_2 sobre diversos materiales, entre los que destacan las láminas de papel no tejido (NW10, KN47, etc) desarrolladas por la empresa Ahlstrom (Francia), en el que las partículas de dióxido de titanio se unen a través de un aglutinante o “*binder*” basado en sílice.⁴⁷ No obstante, cuando el fotocatalizador se soporta, se pierde gran parte de su efectividad en relación al material en suspensión y aparecen procesos de lavado de las partículas de TiO_2 unidas a la lámina por el agua a tratar, así como procesos de degradación del material usado como soporte por efecto del propio radical hidroxilo generado. Sin embargo, las mayores limitaciones para el tratamiento doméstico de agua de los procesos avanzados de oxidación en general, y del empleo de TiO_2 en particular, provienen del propio radical hidroxilo y de la radiación UV involucrados en dichos procesos. El requerimiento de radiación UV supone un escaso aprovechamiento del espectro solar, pues esta radiación de alta energía apenas corresponde a un 5% del total de la radiación incidente. En consecuencia, la optimización del uso de estas tecnologías puede llevar asociados unos costes iniciales considerables dado que, como alternativa a la radiación solar, puede hacerse necesario el empleo de lámparas UV de media y baja presión.⁴⁸ Por otra parte, el radical HO^\bullet fotogenerado es una especie que se inactiva de manera efectiva por carbonatos y bicarbonatos presentes en el agua. Además, la presencia de materia orgánica disuelta y/o de contaminantes presentes en el agua a desinfectar dará lugar a procesos oxidativos paralelos a la eliminación de patógenos, debido a fenómenos competitivos en la adsorción de sustratos sobre las partículas de catalizador y por efecto del fuerte poder

⁴⁴ Gelover, S., Gómez, L. A., Reyes, K., Leal, M. T. “*A Practical Demonstration of Water Disinfection Using TiO_2 Films and Sunlight*”, *Water Res.*, **2006**, 40, 3274–3280.

⁴⁵ Lonnen, J., Kilvington, S., Kehoe, S. C., Al-Touati, F., McGuigan, K. G. “*Solar and Photocatalytic Disinfection of Protozoan, Fungal and Bacterial Microbes in Drinking Water*”, *Water Res.*, **2005**, 39, 877–883.

⁴⁶ Blanco, J., Fernández, P., Malato, S. “*Solar Photocatalytic Detoxification and Disinfection of Water: Recent Overview*”, *J. Solar Energy Eng.*, **2007**, 129, 4–15.

⁴⁷ Gumy, D., Rincón, A. G., Hadju, R., Pulgarin, C. “*Solar Photocatalysis for Detoxification and Disinfection of Water: Different Types of Suspended and Fixed TiO_2 Catalysts Study*”, *Solar Energy*, **2006**, 80, 1376–1381.

⁴⁸ Sutherland, J., Adams, C., Kekobad, J. “*Treatment of MTBE by Air Stripping, Carbon Adsorption, and Advanced Oxidation: Technical and Economic Comparison for Five Groundwaters*”, **2004**, *Water Res.*, 38, 193–205.

oxidante de los radicales hidroxilo generados unido a su inespecificidad de acción.⁴⁹ Si bien es complicado evitar estos procesos competitivos con respecto a los procesos de inactivación bacteriana, se están realizando esfuerzos por aumentar la coincidencia entre el intervalo de absorción de radiación del TiO_2 y el espectro solar, para desplazar la absorción de radiación desde el UV hacia la región espectral de luz visible.⁵⁰ Para ello se intenta modificar el dióxido de titanio mediante su dopado con diferentes metales de transición a costa, por lo general, de cierta reducción de su eficiencia fotocatalítica.

A pesar de las limitaciones comentadas, en los últimos años se han empezado a comercializar diversos sistemas de desinfección de superficies como Hydrotect® (Toto, Japón) o de purificación de aire como UVT® (Onyx, China) basados en TiO_2 y radiación UV y, a pesar de los elevados requerimientos energéticos asociados a la radiación UV en relación a la baja eficiencia de producción de HO^\bullet por parte del TiO_2 , muy recientemente se han desarrollado sistemas para la purificación y desinfección de agua como Aqua Solution® (Ube, Japón). No obstante, hay que destacar que el uso de TiO_2 como desinfectante da lugar a un efecto bacteriostático remanente en el agua, incluso durante varios días, tras los periodos de irradiación.⁵¹ Este hecho se debería a la generación de H_2O_2 residual procedente de la combinación de radicales hidroxilo. Esta propiedad asociada al dióxido de titanio, común a otras técnicas como la cloración, muestra la potencialidad del TiO_2 como descontaminante y desinfectante o asistente en la desinfección en combinación con otras técnicas de tratamiento de agua a nivel doméstico basadas en la radiación solar, como la técnica SODIS o la fotosensibilización.^{52,53}

2.3.2. Fotosensibilización para la generación de oxígeno singlete como especie reactiva.

Una técnica novedosa para la desinfección de aguas utilizando energía solar es la generación de oxígeno molecular singlete (abreviadamente, $^1\text{O}_2$) como especie intermedia reactiva, a través de un proceso conocido como fotosensibilización. Se trata de un proceso fotoquímico que involucra sustancias colorantes, (foto)sensibilizadores,

⁴⁹ Rincón, A. G., Pulgarin, C. “Solar Photolytic and Photocatalytic Disinfection of Water at Laboratory and Field Scale. Effect of the Chemical Composition of Water and Study of the Postirradiation Events”, J. Solar Energy Eng., **2007**, 129, 100–110.

⁵⁰ Chatterjee, D., Dasgupta, S. “Visible Light Induced Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants”, J. Photochem. Photobiol. C, **2005**, 6, 186–205.

⁵¹ Rincón, A. G., Pulgarin, C. “Bactericidal Action of Illuminated TiO_2 on Pure *Escherichia coli* and Natural Bacterial Consortia: Post-Irradiation Events in the Dark and Assessment of the Effective Disinfection Time”, Appl. Catal. B: Environ., **2004**, 49, 99–112.

⁵² Duffy, E. F., Al-Touati, F., Kehoe, S. C., McLoughlin, O. A., Gill, L. W., Gernjak, W., Oller, I., Maldonado, M. I., Malato, S., Cassidy, J., Reed, R. H., McGuigan, K. G. “A Novel TiO_2 -Assisted Solar Photocatalytic Batch-Process Disinfection Reactor for the Treatment of Biological and Chemical Contaminants in Domestic Drinking Water in Developing Countries”, Solar Energy, **2004**, 77, 649–655.

⁵³ Navntoft, C., Araujo, P., Litter, M. I., Apella, M. C., Fernández, D., Puchulu, M. E., Hidalto, M. V., Blesa, M. A. “Field Tests of the Solar Water Detoxification SOLWATER Reactor in Los Pereyra, Tucumán, Argentina”, J. Solar Energy Eng., **2007**, 129, 127–134.

capaces de alcanzar estados electrónicos excitados por absorción de luz y transferir su exceso de energía a otras moléculas presentes en el medio. En el caso que nos ocupa, el exceso de energía del sensibilizador excitado se transfiere al oxígeno molecular disuelto en el agua naturalmente para dar lugar, a su vez, al oxígeno molecular singlete ($^1\text{O}_2$) como especie reactiva de interés. Esta técnica se encuadra claramente dentro de la “química verde”,⁵⁴ porque el $^1\text{O}_2$ se genera a través de una fuente renovable como la radiación solar, mediante un proceso de carácter fotocatalítico. El oxígeno singlete se genera *in situ* en el agua a tratar y su tiempo de vida, del orden de unos μs (antes de desactivarse de nuevo a O_2 en estado fundamental), le convierte en una especie no persistente y limpia, que no requiere de la adición de reactivos químicos diferentes del propio catalizador y que no afecta a las propiedades organolépticas del agua.

El oxígeno singlete.

En la molécula de oxígeno en estado fundamental, los dos electrones más externos se encuentran desapareados en sendos orbitales degenerados (π^*), de acuerdo a la regla de Hund (Figura 10).⁵⁴ Debido a esto, el oxígeno molecular en estado electrónico fundamental (*i.e.* no excitado) presenta una configuración electrónica de carácter triplete, a diferencia de la mayoría de sustancias químicas, cuyo estado fundamental es singlete.

El estado excitado de menor energía de la molécula de oxígeno presenta dos electrones apareados en un orbital π^* , lo que le confiere carácter singlete, habiendo una diferencia de energía entre el estado fundamental triplete y el estado excitado singlete de $94,2 \text{ kJ mol}^{-1}$. Por encima de dicho nivel excitado existe otro estado excitado singlete cuyo exceso de energía frente al fundamental es de $156,9 \text{ kJ mol}^{-1}$. Aunque existen estos dos estados excitados singlete ($^1\Delta_g$ y $^1\Sigma_g$ según su notación espectroscópica, respectivamente), habitualmente se usa el término oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) para referirse al estado excitado más estable del O_2 y, por tanto, de menor energía ($^1\Delta_g$) (Figura 11).

⁵⁴ Schweitzer, C., Schmidt, R. “Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen”, Chem. Rev., **2003**, 103, 1685–1757.

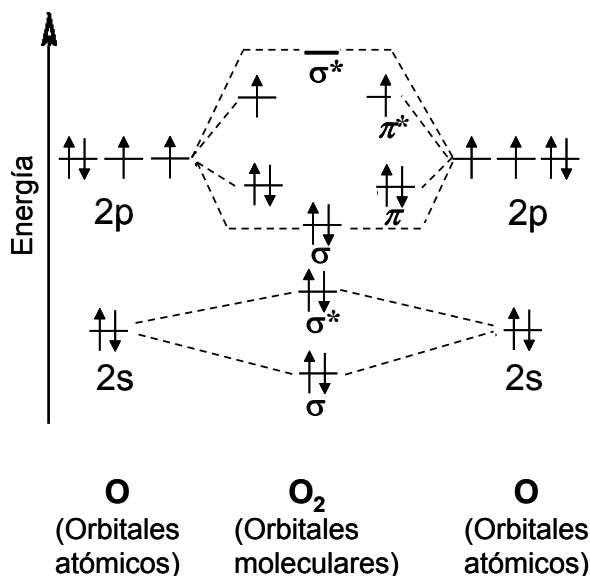


Figura 10. Diagrama de orbitales moleculares del oxígeno molecular en estado fundamental.

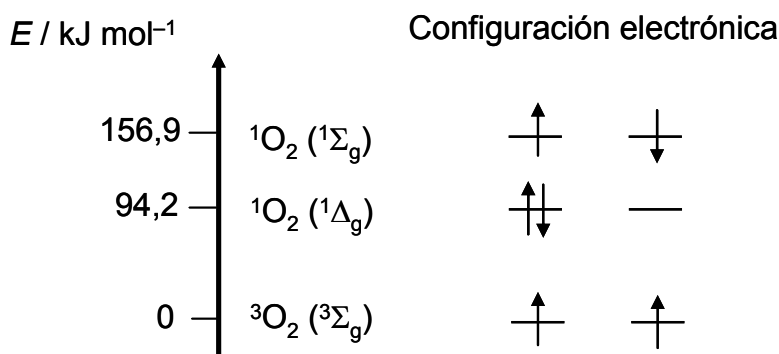


Figura 11. Diagrama de estados energéticos y representación de la configuración electrónica externa de los orbitales π^* en el estado fundamental (triplete) y en los dos primeros estados excitados (singlete) del oxígeno molecular. Entre paréntesis aparece la notación espectroscópica de las moléculas.

El oxígeno singlete difícilmente puede generarse mediante absorción directa de radiación por parte del oxígeno molecular, pues las transiciones electrónicas entre el estado fundamental de multiplicidad triplete del oxígeno y sus estados excitados de carácter singlete son transiciones de espín prohibidas, de acuerdo con la regla de Laporte que prohíbe transiciones que implican una redistribución de electrones dentro de orbitales moleculares de la misma subcapa electrónica. El cambio en el apareamiento de los electrones en el conjunto de orbitales $2p$ en el oxígeno constituye, por tanto, una transición prohibida por absorción de fotones. Por ello, la generación de oxígeno singlete requiere un proceso indirecto como es, por ejemplo, la fotosensibilización. Por los mismos motivos, las transiciones electrónicas que provocan la desactivación del $^1\text{O}_2$ son también transiciones prohibidas.⁵⁴ Este hecho conlleva que el tiempo de vida (τ_Δ)

del estado excitado sea relativamente largo. El entorno en el que esta especie reactiva del oxígeno sea generado influirá de manera decisiva en su tiempo de vida. En fase gaseosa, el tiempo de vida asociado al oxígeno singlete alcanza unos 15 min, mientras que en disolución varía con la facilidad de transferencia de energía a los modos vibracionales del disolvente. Así, mientras en disolventes halogenados como el tetracloruro de carbono se han descrito tiempos de vida del $^1\text{O}_2$ del orden de los milisegundos, en agua, debido a la desactivación por acoplamiento vibracional con los enlaces O–H del disolvente, el tiempo de vida se acorta hasta unos 3 μs .⁵⁵

El oxígeno singlete se muestra como un oxidante de menor poder que otras especies reactivas del oxígeno tales como el radical hidroxilo ($E^0 = 1,70$ vs. 2,80 V; *Tabla 6*),³⁸ lo que provoca que su reactividad química relativa sea más baja aunque más selectiva. Por otro lado, la presencia de un orbital π^* vacante y de baja energía confiere al $^1\text{O}_2$ una elevada reactividad química como electrófilo. Esto permite su uso en síntesis orgánica, donde el orbital vacío π^* de la molécula de $^1\text{O}_2$ participa de manera efectiva en reacciones con nucleófilos como alquenos, dienos, compuestos aromáticos, aminas, compuestos de azufre y otros compuestos con alta densidad electrónica.⁵⁶ El oxígeno singlete también se emplea en la fotodegradación por oxidación de agentes contaminantes, si bien esta especie no llega a mineralizar la materia orgánica como sí lo hace, por ejemplo, el radical hidroxilo.^{57,58,59} Por otra parte, el poder oxidante del $^1\text{O}_2$ puede aplicarse a la destrucción celular, a través de modificaciones estructurales de componentes celulares, gracias a que sus propiedades como electrófilo le permiten reaccionar con diferentes biomoléculas como aminoácidos, lípidos y nucleobases. En consecuencia, el oxígeno singlete podrá reaccionar con muchos de los componentes de las membranas celulares, que serán susceptibles de sufrir modificaciones moleculares, tales como proteínas, fosfolípidos insaturados, etc.^{60,61} En este sentido, una aplicación del $^1\text{O}_2$ con grandes perspectivas es la llamada terapia fotodinámica (PDT, “*photodynamic therapy*”). Esta técnica se aplica en el tratamiento contra infecciones localizadas (PACT, “*photodynamic antimicrobial chemotherapy*”), alteraciones de la

⁵⁵ Wilkinson, F., Helman, P., Ross, A. B. “Rate Constants for the Decay and Reactions of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution. An Expanded and Revised Compilation”, J. Phys. Chem. Ref. Data, **1995**, 24, 663–1021.

⁵⁶ DeRosa, M. C., Crutchley, R. J. “Photosensitized Singlet Oxygen and Its Applications”, Coord. Chem. Rev., **2002**, 233–234, 351–371.

⁵⁷ Braun, A. M., Maurette, M. T., Oliveros, E. “Photooxidation” en Photochemical Technology, **1991**, Wiley, Chichester.

⁵⁸ Braun, B., Ortner, J., Funken, K. H., Schäfer, M., Schmitz, C., Horneck, G. Fsadni, M. “Dye-Sensitized Solar Detoxification and Disinfection of Contaminated Water” en Proceedings of the Eighth International Symposium on Solar Thermal Concentrating Technology, Vol. 3, Becker, M., Böhmer, M. (eds.), **1996**, C. F. Müller Verlag, Heidelberg.

⁵⁹ Cantau, C., Pigot, T., Manoj, N., Oliveros, E., Lacombe, S. “Singlet Oxygen in Microporous Silica Xerogel: Quantum Yield and Oxidation at the Gas-Solid Interface”, ChemPhysChem, **2007**, 8, 2344–2353.

⁶⁰ George, S., Kishen, A. “Influence of Photosensitizer Solvent on the Mechanisms of Photoactivated Killing of *Enterococcus faecalis*”, Photochem. Photobiol., **2008**, 84, 734–740.

⁶¹ Cadet, J., Ravanat, J. L., Martinez, G. R., Medeiros, M. H. G., Di Mascio P. “Singlet Oxygen Oxidation of Isolated and Cellular DNA: Product Formation and Mechanistic Insights”, Photochem. Photobiol., **2006**, 82, 1219–1225.

piel o, de una manera destacada, contra tumores cancerígenos.⁶² La terapia fotodinámica consiste en la aplicación o suministro de fármacos que, de manera preferencial, son retenidos por las células en las zonas a tratar, como son los tejidos tumorales. Estos compuestos químicos son capaces de fotogenerar $^1\text{O}_2$ al ser excitados mediante radiación láser de longitudes de onda preferentemente superiores a 600 nm, de máxima penetración en los tejidos.⁶³ El oxígeno singlete producido actúa sobre las células objetivo hasta su destrucción, de manera que el fármaco es eliminado por el organismo tras un periodo relativamente corto de tiempo.^{64,65,66} Existen fármacos comerciales ya aplicados a terapia fotodinámica en Medicina, como es el caso del Photofrin® (QLT PhotoTherapeutics, Canadá). Sin embargo, la aplicación de interés en el presente estudio es la desinfección en el ámbito del tratamiento de aguas, utilizando oxígeno singlete generado en medio microheterogéneo donde dada la ubicuidad del oxígeno molecular, si el $^1\text{O}_2$ se genera en un entorno suficientemente próximo a los patógenos, cabe esperar que su inactivación sea eficaz. De hecho, se ha comprobado la toxicidad del $^1\text{O}_2$ sobre toda clase de células, procariotas o eucariotas, porque todas las células presentan biomoléculas susceptibles de ser atacadas por el oxígeno singlete. Por tanto, ciertos microorganismos resistentes a procesos de cloración, la radiación UV o microorganismos termófilos capaces de resistir elevadas temperaturas podrán ser inactivados, alternativamente, mediante el oxígeno singlete.

Producción fotosensibilizada de oxígeno singlete.

Existen varios métodos de generación del oxígeno singlete. La descomposición fotolítica del O_3 en agua usando radiación de longitud de onda inferior a 330 nm da como resultado la formación de oxígeno atómico singlete y oxígeno molecular singlete, pero el oxígeno atómico singlete se recombina con el agua y el producto principal de la reacción es peróxido de hidrógeno. Otras posibilidades para la generación de $^1\text{O}_2$ en el laboratorio consisten en la aplicación de descargas eléctricas sobre O_2 en fase gas o en fase condensada; mediante procesos químicos como la reacción de agua oxigenada con

⁶² Allison, R. R., Downie, G. H., Cuenca, R., Hu, X. H., Childs, C. J. H., Sibata, C. H. "Photosensitizers in Clinical PDT", Photodiag. Photodyn. Therapy, **2004**, 1, 27–42.

⁶³ Nielsen, K. P., Juzeniene, A., Juzenas, P., Stamnes, K., Stamnes, J. J., Moan, J. "Choice of Optimal Wavelength for PDT: The Significance of Oxygen Depletion", Photochem. Photobiol., **2005**, 81, 1190–1194.

⁶⁴ Lang, K., Mosinger, J., Wagnerová, D. M. "Photophysical Properties of Porphyrinoid Sensitizers non-Covalently Bound to Host Molecules; Models for Photodynamic Therapy", Coord. Chem. Rev. **2004**, 248, 321–350.

⁶⁵ Maftoum-Costa, M., Naves, K. T., Oliveira, A. L., Tedesco, A. C., Soares da Silva, N., Pacheco-Soares, C. "Mitochondria, Endoplasmic Reticulum and Actin Filament Behavior after PDT with Chloroaluminum Phthalocyanine Liposomal in HeLa Cells", Cell Biol. Int., **2008**, 32, 1024–1028.

⁶⁶ Yoshida, T., Tokashiki, R., Ito, H., Shimizu, A., Nakamura, K., Hiramatsu, H., Tsukahara, K., Shimizu, S., Takata, D., Okamoto, I., Suzuki, M. "Therapeutic Effects of a New Photosensitizer for Photodynamic Therapy of Early Head and Neck Cancer in Relation to Tissue Concentration", Auris Nasus Larynx, **2008**, 35, 545–551.

hipoclorito o bien a través de la descomposición térmica de ciertos reactivos como endoperóxidos de fosfitozónidos, todo lo supone unas claras limitaciones de uso a un nivel de tratamiento doméstico.⁵⁷ El método más práctico, aplicable a diferentes escalas y empleado habitualmente para la generación de oxígeno singlete es la fotosensibilización mediante transferencia de energía desde estados excitados de colorantes denominados sensibilizadores, al oxígeno molecular, de manera que los sensibilizadores actúan como fotocatalizadores. Cuando una molécula orgánica en estado fundamental (por lo general con carácter singlete, S_0) absorbe un fotón de energía adecuada, un electrón presente en el orbital molecular ocupado de más alta energía (HOMO, “*highest occupied molecular orbital*”) se promociona hasta el orbital molecular vacío de menor energía (LUMO, “*lowest unoccupied molecular orbital*”). En un tiempo del orden de los femtosegundos, se alcanza así un estado excitado singlete (S_1). El tiempo de vida de la especie excitada es limitado y depende de la naturaleza de la especie y de factores ambientales. El estado S_1 puede desactivarse al estado fundamental S_0 mediante vías no radiantes como la conversión interna, seguida de la relajación vibracional mediante liberación de energía calorífica, o bien mediante una vía radiante a través de fluorescencia, con un tiempo de emisión relativamente corto, típicamente de 10^{-10} – 10^{-7} s. Este mecanismo de fotoexcitación y desactivación del estado excitado es el que sucede en gran parte de las moléculas; sin embargo, en ciertos tipos de colorantes puede producirse un cambio en el espín del electrón promocionado, con el consiguiente cambio de la multiplicidad del estado excitado, desde singlete S_1 a triplete T_1 (“cruce intersistemas”). De esta manera se alcanza T_1 , estado excitado triplete de largo tiempo de vida (del orden de 10^{-6} – 10^{-2} s), que nuevamente podrá desactivarse hasta S_0 por vías no radiantes o por vías radiantes. La luminiscencia de larga duración asociada al estado excitado triplete debido al carácter prohibido de la transición $T_1 \rightarrow S_0$ se conoce como fosforescencia. A veces, los tiempos de vida sumamente cortos asociados al estado excitado S_1 no permiten que se produzca la interacción intermolecular entre la especie excitada y otro reactivo, de manera que la desactivación de S_1 ocurre predominantemente por vías unimoleculares. Sin embargo, los tiempos de vida más largos del estado excitado T_1 posibilitan que, de una manera competitiva y antes de recuperar su estado fundamental S_0 por las vías antes descritas, se pueda producir una reacción fotoquímica entre T_1 y otra molécula presente en el medio. El estado excitado podrá así desactivarse, cediendo su exceso de energía a una molécula aceptora que, a su vez, se promociona a su correspondiente estado excitado (transferencia de energía).⁵⁴ A través del denominado “diagrama de Jablonski” se pueden representar de forma esquemática los procesos de excitación y desactivación en las moléculas. La [Figura 12](#) muestra el proceso de excitación de un fotosensibilizador y su desactivación mediante transferencia de energía.

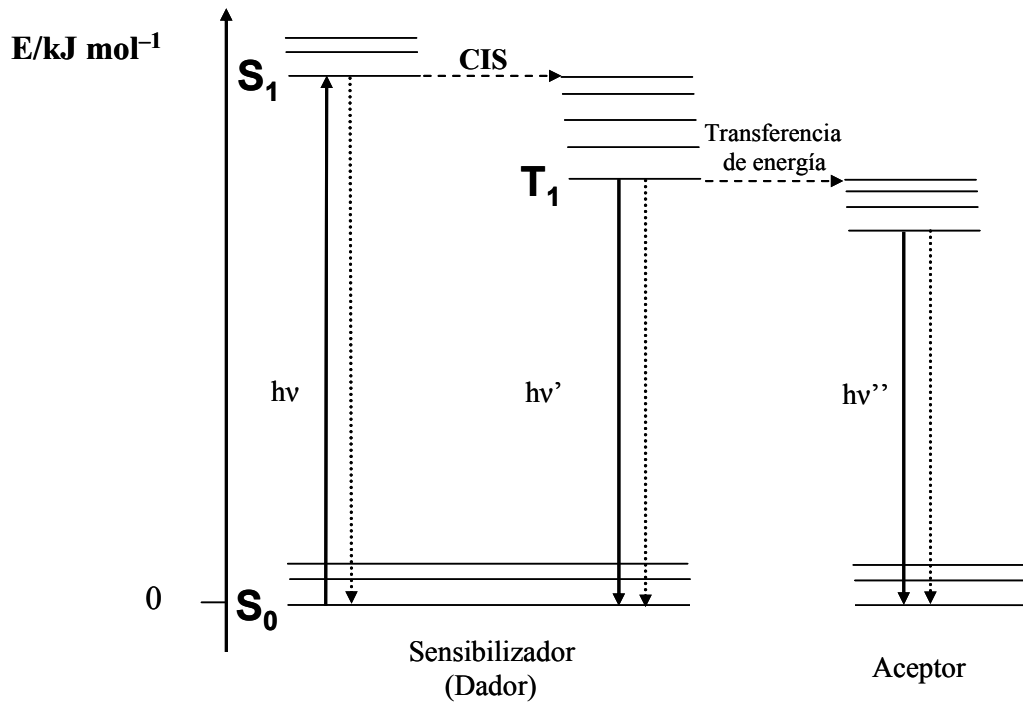


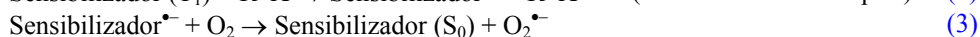
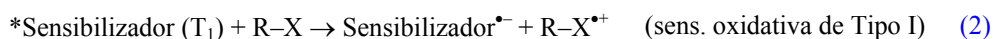
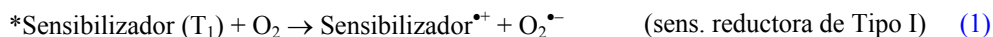
Figura 12. Diagrama de Jablonski del proceso de excitación de un fotosensibilizador y su desactivación en presencia de una molécula aceptora. Las líneas discontinuas representan procesos fotofísicos no radiantes, frente a los procesos radiantes representados por líneas continuas.

La mayor o menor contribución de los fenómenos de desactivación del estado T_1 por vías radiantes (r), no radiantes (nr) y de desactivación bimolecular (q , “*quenching*”), dependerá de las constantes de velocidad de los distintos procesos (k_r , k_{nr} y k_q), teniendo en cuenta que los procesos de desactivación bimolecular están limitados por la difusión de las especies reaccionantes. El tiempo de vida τ_T del estado excitado podrá expresarse como indica la [ecuación \(a\)](#):

$$\tau_T = \frac{1}{\sum_i k_i} = \frac{1}{k_r + k_{nr} + k_q[\text{desactivador}]} \quad (\text{a})$$

El proceso de desactivación del sensibilizador por interacción con otra especie puede producirse mediante la transferencia electrónica, o bien mediante transferencia de energía, lo que se conoce como fotosensibilización de Tipo I y de Tipo II, respectivamente.⁵⁴ En la fotosensibilización de Tipo I, el estado excitado T_1 captura o cede un electrón de un sustrato presente en el entorno. De esta manera, ambas moléculas, el sensibilizador excitado y el sustrato, se convierten en especies iónicas radicalicas reactivas. En presencia de oxígeno, la especie radicalica del oxígeno involucrada es el anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Esta especie se genera por reducción directa

del O_2 por parte de T_1 (sensibilización reductora) o por oxidación de un sustrato previo (sensibilización oxidativa), de manera que el sensibilizador en forma de anión radical recuperará su estado fundamental al transferir al O_2 un electrón, lo que da lugar al anión superóxido. La capacidad reactiva asociada a este mecanismo de generación de $\text{O}_2^{\bullet-}$ será debida a la formación de especies radicálicas libres o a especies derivadas como radical perhidroxilo (HO_2^{\bullet}) o peróxido de hidrógeno.⁵⁷ Teniendo en cuenta que el potencial de reducción asociado al par $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$ corresponde a -0.33 V , los mecanismos descritos corresponden con lo siguiente:



Por su parte, la fotosensibilización de Tipo II con el O_2 ocurre principalmente por vía colisional y supone que el estado excitado T_1 cede su energía al oxígeno molecular con producción de oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) y con la recuperación del sensibilizador en estado fundamental S_0 . Se trata, por tanto, de un proceso fotocatalítico, lo cual es deseable desde el punto de vista funcional. Su mecanismo se esquematiza en la Figura 13.

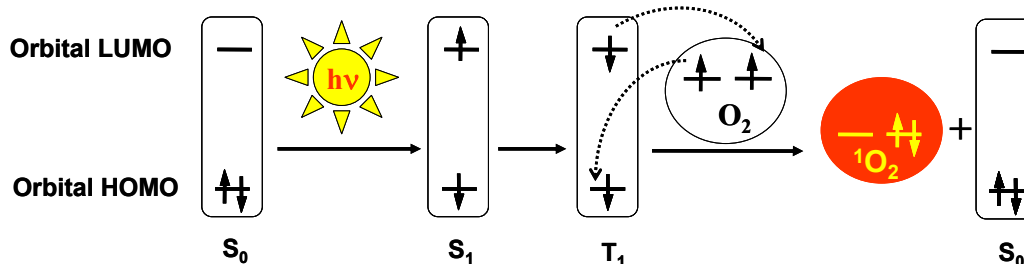


Figura 13. Proceso de sensibilización de Tipo II para dar lugar a la fotogeneración de $^1\text{O}_2$.

Teniendo en cuenta la especie reactiva fotogenerada, el proceso de interés en relación con su aplicación en desinfección corresponde con la sensibilización de Tipo II. De los dos mecanismos de desactivación del sensibilizador descritos, uno se verá favorecido frente a otro en función del medio en el que el fotosensibilizador se encuentre. Por otra parte, las propiedades y la naturaleza del fotosensibilizador influyen en el mecanismo y en su efectividad.⁶⁷ Los requisitos que debe poseer un fotosensibilizador para producir $^1\text{O}_2$ de manera eficiente son los siguientes:⁵⁶

⁶⁷ Ergaieg, K., Chevanne, M., Cillard, J., Seux, R. "Involvement of both Type I and Type II Mechanisms in Gram-positive and Gram-negative Bacteria Photosensitization by a Meso-Substituted Cationic Porphyrin", *Solar Energy*, **2008**, 82, 1107–1117.

- Intensa absorción de radiación para la excitación de las moléculas. La región de absorción preferente corresponde con el visible, para maximizar el aprovechamiento de la radiación solar. El coeficiente de absorción molar (ε) en el máximo de absorción debe ser elevado ($\varepsilon \geq 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).
- Elevada eficiencia en la conversión desde el estado excitado S_1 al estado triplete T_1 del sensibilizador. Este proceso se representa a través del rendimiento cuántico de cruce intersistemas (Φ_{CIS}), que corresponde a la cantidad de estados excitados S_1 que evoluciona a T_1 ($S_1 \rightarrow T_1$) en relación al número de fotones absorbidos por el sensibilizador. Así, un valor de $\Phi_{\text{CIS}} = 1$ supone que el 100% de los estados S_1 generados por absorción fotónica se convierten en T_1 , y la desactivación de S_1 por vías no radiantes y por emisión de fluorescencia son, en comparación, procesos despreciables o inexistentes.
- Una condición necesaria para que ocurra la desactivación del estado excitado triplete T_1 por el O_2 , es que la energía asociada a T_1 sea superior a la del oxígeno singlete ($94,2 \text{ kJ mol}^{-1}$). Las energías típicas de los estados excitados T_1 de los sensibilizadores son $125\text{--}360 \text{ kJ mol}^{-1}$,⁶⁸ lo que puede dar lugar a la generación de oxígeno singlete $^1\Delta_g$ y $^1\Sigma_g$, si bien éste último se desactiva rápidamente para dar $^1\Delta_g$ y todo el oxígeno singlete generado puede considerarse como el correspondiente al estado excitado de menor energía (Figura 14).

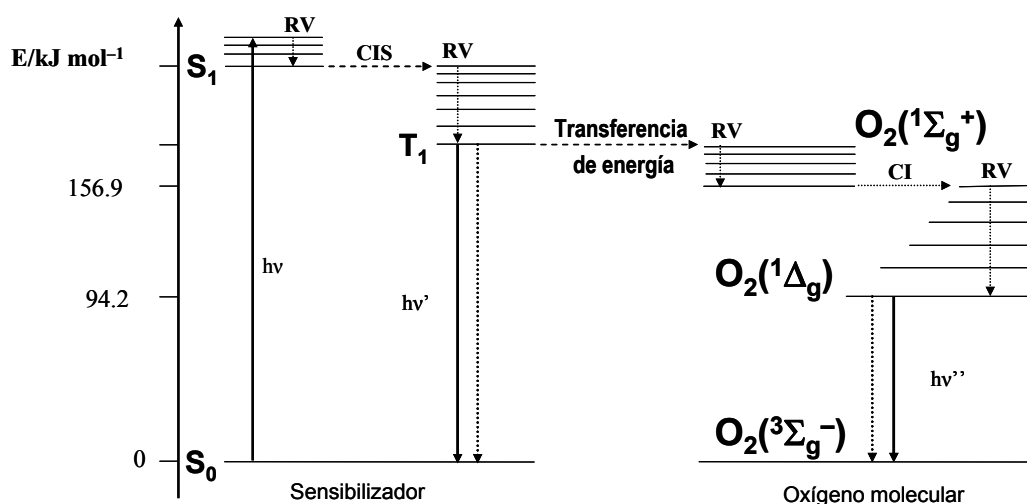


Figura 14. Diagrama de Jablonski del proceso de sensibilización de Tipo II para dar lugar a la fotogeneración de $^1\text{O}_2$. Las líneas discontinuas representan procesos foto físicos no radiantes y las líneas continuas representan procesos radiantes. RV: relajación vibracional. CIS: cruce intersistemas. CI: conversión interna.

⁶⁸ Turro, N. J., Ramamurthy, V., Scaiano, J. C. “*Principles of Molecular Photochemistry: An Introduction*”, 2009, University Science Books, Herndon, Virginia.

- El tiempo de vida del estado excitado T_1 (τ_T), debe ser suficientemente largo para permitir una óptima desactivación por colisión con el O_2 . Una vez que el oxígeno y el sensibilizador excitado T_1 entran en contacto, la transferencia de energía se produce de manera muy rápida, pero hay que tener en cuenta que la transferencia de energía es un proceso limitado por la difusión en el medio, de manera que el valor máximo estimado para k_q es en torno a $10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.⁶⁹ Un valor de la constante de desactivación bimolecular elevado y próximo a ese límite es deseable para una generación eficaz de $^1\text{O}_2$.
- Elevado rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete (Φ_Δ) en distintos medios. Corresponde con el número de moléculas de $^1\text{O}_2$ generadas, en relación con el número de fotones absorbidos por el sensibilizador. Este parámetro es el resultante de tres contribuciones (ecuación b):

$$\Phi_\Delta = \Phi_{\text{cis}} P_{\text{O}_2}^T f_\Delta^T \quad (\text{b})$$

donde $P_{\text{O}_2}^T$ es la fracción de estados T_1 que son desactivados por O_2 y f_Δ^T es la fracción de estados T_1 que son desactivados por O_2 produciendo $^1\text{O}_2$.

Existen diferentes tipos de fotosensibilizadores capaces de cumplir con estos requisitos. En general se trata de moléculas con sistemas conjugados π tales como compuestos aromáticos heterocíclicos o hidrocarburos aromáticos polinucleares. Los fotosensibilizadores más empleados son colorantes orgánicos como el rosa de bengala o el azul de metileno, así como otros compuestos orgánicos como fenalenona o porfirinas y metaloporfirinas. En medio homogéneo, por ejemplo, se han descrito valores de Φ_Δ próximos a 1 para fenalenona, 0,75 para rosa de bengala ó 0,5 para azul de metileno.^{56,70} El hecho de que los sensibilizadores se encuentren en fase homogénea, desde el punto de vista de la calidad del agua destinada al consumo humano, implica la necesidad de una etapa adicional para su eliminación. Por ello, para el tratamiento de agua en el lugar de uso, se hace necesaria la inmovilización de los fotosensibilizadores sobre soportes adecuados para llevar a cabo el tratamiento de desinfección.^{71,72} De esta manera, el oxígeno singlete será liberado al entorno, donde se llevará a cabo la acción fotodinámica sobre los patógenos, mientras que el medio no se verá contaminado por el fotosensibilizador. En este sentido, una ventaja que presentan los fotosensibilizadores

⁶⁹ Murov, S. L., Carmichael, I., Hug, G. L. “*Handbook of Photochemistry*”, 2nd ed., **1993**, M. Dekker Inc., New York, pp. 207–208.

⁷⁰ Schäfer, M., Schmitz, C., Facius, R., Horneck, G., Milow, B., Funken, K. H., Ortner, J. “*Systematic Study of Parameters Influencing the Action of Rose Bengal with Visible Light on Bacterial Cells: Comparison between the Biological Effect and Singlet-Oxygen Production*”, Photochem. Photobiol., **2000**, 71, 514–523.

⁷¹ Giaimuccio, J., Zamadar, M., Aebisher, D., Meyer, G. J., Greer, A. “*Singlet Oxygen Chemistry in Water. 2. Photoexcited Sensitizer Quenching by O_2 at the Water-Porous Glass Interface*”, J. Phys. Chem. B, **2008**, 112, 15646–15650.

⁷² Shimakoshi, H., Baba, T., Iseki, Y., Endo, A., Adachi, C., Watanabe, M., Hisaeda, Y. “*Photosensitizing Properties of the Porphycene Immobilized in Sol-Gel Derived Silica Coating Films*”, Tetrahedron Lett., **2008**, 49, 6198–6201.

inmovilizados en comparación con otros fotocatalizadores soportados como TiO_2 es que, dado el fuerte poder oxidante del HO^\bullet generado por el dióxido de titanio, esta especie reactiva podrá atacar a los propios soportes y favorecer su destrucción, mientras que la menor y más selectiva reactividad del $^1\text{O}_2$ minimiza los procesos de ataque al soporte polimérico.

3. SISTEMAS DE DESINFECCIÓN FOTOCATALÍTICA DE AGUA.

3.1. Compuestos de coordinación de Ru(II) y fullereno (C_{60}) y sus derivados como fotosensibilizadores.

No existe el fotosensibilizador perfecto, bien debido a los requisitos mencionados anteriormente, bien por otros fenómenos asociados como son toxicidad o fotoinestabilidad. De entre la gran variedad de fotosensibilizadores posibles destacan, por sus ventajas en la aplicación de la desinfección de agua, dos familias bien diferenciadas según su estructura y características fotofísicas y fotoquímicas: (i) complejos de rutenio(II) con ligandos quelatantes poliazaheterocíclicos y (ii) C_{60} y los derivados del mismo. Ambas familias de fotosensibilizadores permiten generar $^1\text{O}_2$ de un modo eficiente, además de poseer otras características interesantes como su versatilidad funcional, la asequibilidad comercial de los mismos, su baja toxicidad y su enorme potencialidad para modular y mejorar sus propiedades, entre otros criterios.

3.1.1 *Complejos de rutenio(II).*

Ciertos complejos de Ru(II), concretamente quelatos con ligandos poliazaheteroaromáticos unidos al ión central de rutenio, presentan excelentes cualidades para la fotosensibilización de oxígeno, de acuerdo con lo comentado en el apartado anterior.⁷³ Estas características provienen de la estructura electrónica y las energías asociadas a los estados excitados de estos quelatos o complejos. El rutenio(II) (metal de transición d^6) presenta 6 electrones distribuidos en 3 orbitales d degenerados. De acuerdo a su índice de coordinación, se disponen tres ligandos bidentados en torno al ión metálico central en un entorno octaédrico, por poseer éste 6 orbitales híbridos d^2sp^3 vacíos. Las transiciones electrónicas por excitación del complejo octaédrico pueden producirse desde el metal a los ligandos, desde los ligandos al metal, ser intraligando o bien estar centradas en el propio metal, lo que se conoce como **MLCT**, **LMCT**, **LC** y **MC** (“*metal-to-ligand charge transfer*”, “*ligand-to-metal charge transfer*”, “*ligand centered*” y “*metal centered*”), respectivamente. La mayor o menor energía de estas transiciones se puede modificar según interese mediante la complejación del ión central con ligandos adecuados. Para los complejos de utilidad,

⁷³ García-Fresnadillo, D., Georgiadou, Y., Orellana, G., Braun, A. M., Oliveros, E. “*Singlet Oxygen ($^1\Delta_g$) Production by Ruthenium(II) Complexes Containing Polyazaheterocyclic Ligands in Methanol and in Water*”, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, 79, 1222–1238.

basados en Ru(II) y cuyos ligandos son, normalmente, moléculas heteroatómicas con sub-estructura de tipo α -diimina ($-\text{N}=\text{C}-\text{C}=\text{N}-$, Figura 15), la transición electrónica de menor energía es de tipo **MLCT**, que da lugar a un estado excitado triplete de alta energía de tiempo de vida largo y, por tanto, es interesante para la fotogeneración de $^1\text{O}_2$.^{74,75}

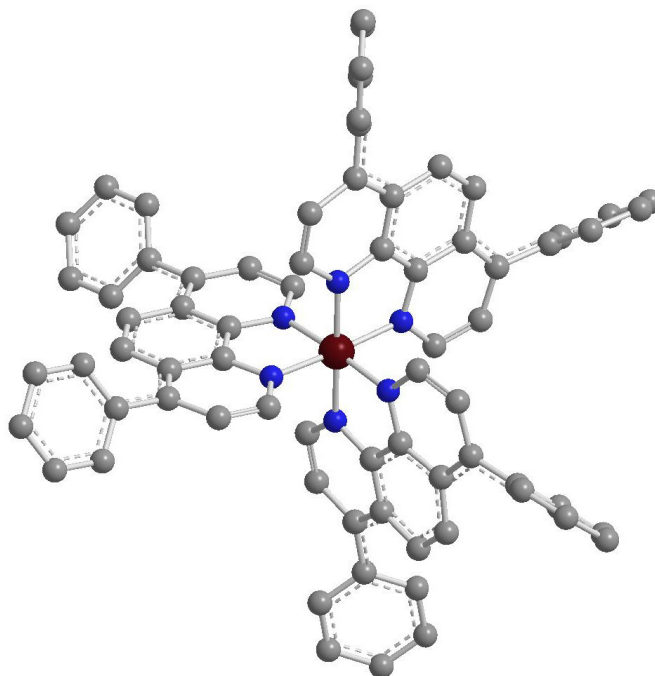


Figura 15. Estructura 3D de un complejo típico de Ru(II) con ligandos quelatantes poliazaheterocíclicos.

En el estado fundamental, los complejos de Ru(II) poseen multiplicidad singlete por presentar todos sus electrones apareados. Por absorción fotónica, se produce alguno de los tránsitos anteriormente descritos que, mediante procesos de relajación vibracional y conversión interna, disipan su energía y alcanzan el estado excitado singlete de menor energía $^1\text{MLCT}$ (S_1). Desde este estado excitado sucede el cruce intersistemas de manera muy eficiente por la presencia del metal pesado, con lo que el estado excitado pasa a tener multiplicidad triplete $^3\text{MLCT}$ (T_1). Desde el estado excitado triplete $^3\text{MLCT}$ se producen los procesos de desactivación, que pueden ser radiantes (luminiscencia) o no radiantes, en competencia con la desactivación molecular por

⁷⁴ Demas, J. N., DeGraff, B. A. “*Design and Applications of Highly Luminescent Transition Metal Complexes*”, Anal. Chem., **1991**, 63, 829–837.

⁷⁵ Orellana, G., García-Fresnadillo, D. “*Environmental and Industrial Optosensing with Tailored Luminescent Ru(II) Polypyridyl Complexes*” en Optical Sensors: Industrial, Environmental and Diagnostic Applications, Springer Series in Optical Sensors and Biosensors Vol. 1, Narayanaswamy, R., Wolfbeis, O. S. (eds.), **2004**, Springer, Heidelberg, pp. 309–357.

choque con O_2 , que puede desembocar en producción de oxígeno singlete. La fotogeneración de $^1\text{O}_2$ por estos complejos es eficaz, de acuerdo con lo siguiente:^{73,76}

- Las transiciones electrónicas descritas conducen a que estos compuestos exhiban una intensa absorción de radiación en la región UV, pero también en la región visible, entre 400–550 nm, con elevados coeficientes de absorción molar ($10^4 < \varepsilon < 5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).
- Máxima eficiencia de conversión del estado excitado singlete S_1 al estado excitado triplete T_1 ($\Phi_{\text{CIS}} = 1$), por el efecto de átomo pesado del ión metálico Ru(II).
- Energía adecuada del estado triplete excitado, típicamente unos 200 kJ mol^{-1} .
- Relativamente largos tiempos de vida del estado excitado T_1 , que aseguran una óptima desactivación colisional por el O_2 ($10^{-7} < \tau_{\text{T}} < 6 \times 10^{-6} \text{ s}$), con unos valores para la constante de desactivación bimolecular, k_{q} , cercanos al control por difusión (k_{q} en el intervalo $10^9 - 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).
- Rendimientos cuántico de generación de oxígeno singlete moderados-altos en función de los ligandos ($\Phi_{\Delta} > 0,2$ en agua, $\Phi_{\Delta} > 0,5$ en medio orgánico)
- Alta estabilidad desde el punto de vista químico, térmico y fotoquímico.

Estas ventajas y, particularmente, su fotoestabilidad, permiten que los procesos de fotoinactivación bacteriana empleando complejos apropiados de Ru(II) como fotosensibilizadores, sean más eficaces en comparación con los que usan otros sensibilizadores orgánicos menos fotoestables como el rosa de bengala. Por otro lado, debido al mejor aprovechamiento del espectro solar, se muestran también más eficientes que fotocatalizadores de tipo TiO_2 .⁷⁷

A estas ventajas ha de unirse la posibilidad de modular las propiedades del estado fundamental y excitado de los complejos de Ru(II) a través de la selección de los ligandos complejantes.⁷⁸ Asimismo, a través de los ligandos, también se facilita la inmovilización sobre un soporte adecuado que permita llevar a cabo el proceso de fotosensibilización en fase heterogénea. Los ligandos de carácter neutro, debido a la carga del ión central de rutenio(II), dan lugar a una carga global del complejo positiva, que puede convertirse en neutra o negativa por selección de ligandos adecuados (por ejemplo Cl^- o ligandos derivados de 2,2'-bipiridina ó 1,10-fenantrolina provistos de grupos funcionales aniónicos como carboxilato o sulfonato). Esta versatilidad permite

⁷⁶ Abdel-Shafi, A. A., Ward, M. D., Schmidt, R. “*Mechanism of Quenching by Oxygen of the Excited States of Ruthenium(II) Complexes in Aqueous Media. Solvent Isotope Effect and Photosensitized Generation of Singlet Oxygen, $\text{O}_2(^1\Delta_g)$, by $[\text{Ru}(\text{diimine})(\text{CN})_4]^{2-}$ Complex Ions*”, Dalton Trans., **2007**, 2517–2527.

⁷⁷ Rengifo-Herrera, J. A., Sanabria, J., Machuca, F., Dierolf, C. F., Pulgarin, C., Orellana, G. “*A Comparison of Solar Photocatalytic Inactivation of Waterborne E. coli Using Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II), Rose Bengal and TiO_2* ”, J. Solar Energy Eng., **2007**, 129, 135–140.

⁷⁸ Hergueta, A., Jiménez-Hernández, M. E., Montero, F., Oliveros, E., Orellana, G. “*Singlet Oxygen-Mediated DNA Photocleavage with Ru(II) Polypyridyl Complexes: Effect of the Photosensitizer Structure*”, J. Phys. Chem. B., **2002**, 106, 4010–4017.

el anclaje por adsorción, covalente o electrostático sobre diferentes materiales, a conveniencia.

El interés de emplear rutenio en lugar de otros metales de transición se explica nuevamente por la estructura electrónica y las energías asociadas a los estados excitados de los complejos metal-orgánicos. Es preferible emplear Ru(II) en lugar de Rh(III), Ir(III), Re(I), Fe(II), Co(III) u Os(II) debido a diversos factores como son la preferencia por una fotoquímica dominada por transiciones MLCT, la absorción de radiación en la región del UV-Visible o la mayor estabilidad de los complejos resultantes.^{75,79}

3.1.2 *Fullereno (C_{60}) y derivados.*

Los fullerenos constituyen la tercera forma alotrópica más estable del carbono, tras el diamante y el grafito, y la única de ellas que se puede solubilizar. Estas especies con estructura tridimensional basadas en carbono puro fueron descubiertas a mediados de los años 80. Desde entonces el interés por estas moléculas en muchas disciplinas de la ciencia ha ido aumentando debido a sus interesantes propiedades estructurales, electrónicas y ópticas, a las que se ha unido su asequibilidad comercial gracias a la creciente producción a nivel industrial de fullerenos desde los años 90 hasta la actualidad. El fullereno más destacado por su mayor abundancia y estabilidad es el Buckminsterfullereno o fullereno C_{60} , constituido por sesenta átomos de carbono. La molécula presenta una estructura similar a un balón de fútbol de 0,7 nm de diámetro formado por un esqueleto de enlaces de tipo σ constituido por 12 pentágonos, que confieren curvatura, y 20 hexágonos (Figura 16). Existen fullerenos mayores con una estructura similar como C_{70} , C_{74} , C_{76} , C_{78} , C_{80} , etc, destacando notablemente el C_{70} por su aplicación y disponibilidad, con propiedades generales muy similares a las de C_{60} y al que sigue en cuanto a estabilidad se refiere. Las estructuras de estos derivados con mayor número de átomos de carbono también se basan en pentágonos y hexágonos, pero su menor estabilidad y la mayor dificultad en su obtención les convierte en moléculas menos interesantes en comparación con el C_{60} , especie que será a la que nos refiramos cuando hablemos de fullereno de aquí en adelante. Existen diversos métodos de producción, entre los que destacan las descargas de arco eléctrico sobre grafito a temperaturas elevadas (sobre los 1000 °C) que conducen, por lo general, a un 75% de C_{60} y a fullerenos mayores como productos minoritarios, de los que prácticamente la totalidad corresponde a C_{70} . Esto encarece la producción de fullerenos mayores por el escaso rendimiento en su obtención.⁸⁰

⁷⁹ Abdel-Shafi, A. A., Bourdelande, J. L., Ali, S. S. "Photosensitized Generation of Singlet Oxygen from Rhenium(I) and Iridium(III) Complexes", Dalton Trans., **2007**, 24, 2510–2516.

⁸⁰ Hirsch, A., Brettreich, M. "Fullerenes: Chemistry and Reactions", **2005**, Wiley, Weinheim.

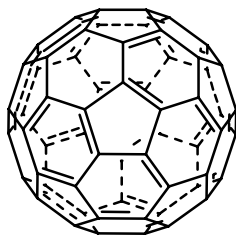


Figura 16. Estructura de fullereno de C_{60} .

En la molécula de C_{60} , los electrones se encuentran extensamente deslocalizados gracias a los 60 electrones π procedentes de los 60 orbitales p de los átomos de carbono. La molécula presenta un alto grado de aromaticidad, aunque recientemente se ha comprobado que no exhibe superaromaticidad, es decir, la molécula de C_{60} no presenta una nube electrónica deslocalizada en toda la molécula.⁸¹ El C_{60} , con multiplicidad singlete en su estado fundamental, presenta unas interesantes propiedades fotofísicas que lo convierten en un óptimo fotosensibilizador. Presenta una intensa absorción desde la región del UV-C hasta el límite del UV con la región del visible, que corresponde a transiciones singlete-singlete favorables con elevados coeficientes de absorción molar ($\epsilon \sim 5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ en el máximo de absorción en la región del UV-A). Por otra parte, el fullereno también exhibe absorción en la región del visible hasta $\sim 620 \text{ nm}$, que se debe a transiciones singlete-singlete prohibidas por la simetría de los orbitales, lo que lleva a que su absorción, aunque homogénea, sea moderada en esta región del espectro ($\epsilon \sim 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁸¹ Esta absorción en buena parte del visible confiere el color oscuro al C_{60} en fase sólida, y el color violeta característico de sus disoluciones. El estado excitado singlete decae muy rápida y eficientemente a su estado excitado de multiplicidad triplete de menor energía, a través del cruce intersistemas ($\Phi_{\text{CIS}} = 1$), lo que evita otras vías de desactivación al estado fundamental como la fluorescencia. Este estado excitado puede desactivarse por diferentes vías, si bien la transferencia de energía al oxígeno molecular se ve muy favorecida, por tratarse de interacciones entre sendos estados tripletes. La energía del estado triplete excitado es mayor de 150 kJ mol^{-1} , con un valor de la constante de desactivación bimolecular cercano al control por difusión ($k_q \sim 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) y presenta un largo tiempo de vida del estado excitado, de hasta el orden de los ms para C_{60} en fase sólida (fullerita).^{82,83,84} Todo ello conduce a que los rendimientos cuánticos de generación de oxígeno singlete correspondientes al C_{60} en disolución sean muy elevados, $\Phi_{\Delta} \cong 1$.⁸¹

⁸¹ "Fullerenes: Principles and Applications", Langa, F., Nierengarten, J. F. (eds.), **2007**, RSC, Cambridge.

⁸² Arbogast, J. W., Darmanyan, A. P., Foote, C. S., Rubin, Y., Diederich, F. N., Álvarez, M. A., Anz, S. J., Whetten, R. L. "Photophysical Properties of C_{60} ", J. Phys. Chem., **1991**, 95, 11–12.

⁸³ Thomas, K. G., Biju, V., George, M. V., Guldi, D. M., Kamat, P. V. "Excited-State Interactions in Pyrrolidinofullerenes", J. Phys. Chem. A, **1998**, 102, 5341–5348.

⁸⁴ Dresselhaus, M. S., Dresselhaus, G., Eklund, P. C. "Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes", **1996**, Academic Press, San Diego, pp. 467,468,484.

Uno de los grandes inconvenientes que presenta el C_{60} de cara a su empleo en aplicaciones como la terapia fotodinámica o, en el caso de interés del presente trabajo, para la inactivación bacteriana, proviene de su insolubilidad en diferentes disolventes. El fullereno es prácticamente insoluble en disolventes polares y que forman enlaces de hidrógeno, como acetona, metanol o agua, mientras que su solubilidad es moderada en alcanos y relativamente elevada en disulfuro de carbono y disolventes aromáticos como tolueno o benceno. Por ello, una posible solución para poder emplear este fotosensibilizador tan eficiente en el tratamiento doméstico de agua pasa por su inmovilización sobre un soporte adecuado, que permita poner en contacto de manera efectiva al oxígeno singlete fotogenerado con los microorganismos presentes en el agua. Otra alternativa sería la derivatización del C_{60} para obtener compuestos con propiedades similares y que sean más solubles en medios acuosos, como el caso del fullerol, forma polihidroxilada del C_{60} ,^{85,86} pero sobre todo interesa facilitar su inmovilización sobre soportes adecuados. Para ello se puede aprovechar la reactividad del C_{60} como aceptor de electrones, susceptible de reducirse y de unirse a superficies metálicas, de ser derivatizado por adición o cicloadición de nucleófilos por vías químicas o fotoquímicas, etc, siendo también posible llevar a cabo adiciones electrófilas. Esta variada reactividad, unida a las interesantes propiedades estructurales y electrónicas de los compuestos basados en C_{60} , conduce a que sus aplicaciones sean de enorme y creciente interés en multitud de aplicaciones en el campo de los superconductores, de los materiales ópticos, de los nanomateriales, en la preparación de nuevos materiales poliméricos, etc.^{87,88,89} De entre todas las posibles aplicaciones asociadas a la modulación de propiedades de estos compuestos a través de la adición de grupos funcionales, destaca su uso con fines médicos a través de la terapia fotodinámica o su empleo en la inactivación de microorganismos.^{90,91} La mayoría de derivados del C_{60} suelen mostrar un ligero aumento de la fluorescencia como vía de desactivación del estado excitado singlete respecto al fullereno, con disminución en el valor de Φ_{CIS} y Φ_{Δ} en comparación con el C_{60} . Esta disminución en las propiedades fotosensibilizadoras suele aumentar con el grado de funcionalización de la molécula original, ya que ésta

⁸⁵ Brant, J. A., Labille, J., Robichaud, C. O., Wiesner, M. "Fullerol Cluster Formation in Aqueous Solutions: Implications for Environmental Release", *J. Colloid Interface Sci.*, **2007**, 314, 281–288.

⁸⁶ Vilen, B., Lekka, M., Sienkiewicz, A., Marcoux, P., Kulik, A. J., Kasas, S., Catsicas, S., Graczyk, A., Forró, L. "Singlet Oxygen ($^1\Delta_g$)-Mediated Oxidation of Cellular and Subcellular Components: ESR and AFM Assays", *J. Phys.: Condens. Matter*, **2005**, 17, S1471–S1482.

⁸⁷ "The Chemistry of Fullerenes", Taylor, R. (ed.), **1995**, World Scientific, Singapore.

⁸⁸ Giacalone, F., Martín, N. "Fullerene Polymers: Synthesis and Properties", *Chem. Rev.*, **2006**, 106, 5136–5190.

⁸⁹ D'Souza, F., Ito, O. "Photoinduced Electron Transfer in Supramolecular Systems of Fullerenes Functionalized with Ligands Capable of Binding to Zinc Porphyrins and Zinc Phthalocyanines", *Coord. Chem. Rev.*, **2005**, 249, 1410–1422.

⁹⁰ Harhaji, L., Isakovic, A., Raicevic, N., Markovic, Z., Todorovic-Markovic, B., Nikolic, N., Vranjes-Djuric, S., Markovic, I., Trajkovic, V. "Multiple Mechanisms Underlying the Anticancer Action of Nanocrystalline Fullerene", *Eur. J. Pharmacol.*, **2007**, 568, 89–98.

⁹¹ Stoilova, O., Jérôme, C., Detrembleur, C., Mouithys-Mickalad, A., Manolova, N., Rashkov, I., Jérôme, R. "C₆₀-Containing Nanostructured Polymeric Materials with Potential Biomedical Applications", *Polymer*, **2007**, 48, 1835–1843.

implica una disminución del grado de aromaticidad de la molécula original, lo cual puede suponer una limitación para su empleo como agente germicida.⁸¹ Se han descrito derivados del C_{60} que muestran una alta eficiencia en la fotogeneración de oxígeno singlete con adecuadas propiedades bactericidas y que pueden ser solubilizados en medio acuoso.⁹² Asimismo, la derivatización también puede favorecer la inmovilización de los compuestos sobre diversos soportes poliméricos.

3.2. Materiales fotosensibilizadores.

3.2.1 *Polímeros de soporte para la inmovilización de fotosensibilizadores.*

Una vez seleccionados los fotosensibilizadores apropiados teniendo en cuenta sus propiedades en fase homogénea, se hace necesaria la inmovilización de los mismos sobre soportes adecuados para llevar a cabo el proceso de desinfección en fase heterogénea, dado que el agua a tratar es para consumo y se ha de evitar la presencia del sensibilizador en las aguas. Los soportes poliméricos a emplear, entre otras cualidades, deben proporcionar robustez al fotosensibilizador sin afectar a sus propiedades, permitiendo un fácil acceso del oxígeno, un buen contacto entre el oxígeno singlete fotogenerado y los microorganismos y, al mismo tiempo, deben evitar el lavado del fotosensibilizador al medio acuoso.

Los fotosensibilizadores se pueden inmovilizar sobre diversos polímeros insolubles, orgánicos o inorgánicos. Existen diversas formas de inmovilización. Entre las más comunes, destaca por su sencillez y rapidez la **adsorción** del sensibilizador al soporte. Se trata de un método físico que se lleva a cabo poniendo en contacto el polímero con el sensibilizador disuelto en un disolvente adecuado, tras lo cual se retira el sobrenadante y se efectúan procesos de lavado y acondicionamiento del soporte para eliminar el fotosensibilizador no adsorbido o adsorbido débilmente. Este proceso requiere una gran afinidad entre el fotosensibilizador y el polímero, preferentemente mediante interacciones intermoleculares de tipo hidrófobo para evitar el lavado a la fase acuosa, por lo que una limitación de este método es la posibilidad de desorción del fotosensibilizador en función de parámetros como el pH, la temperatura o la fuerza iónica del medio acuoso en el que se use el material así preparado.

La **inmovilización electrostática** requiere fotosensibilizadores y polímeros con carácter iónico complementario, que se ponen en contacto a través del sensibilizador en disolución. Se trata de un método rápido, sencillo y de unión más fuerte que en el caso de la adsorción. No obstante, puede producirse la pérdida del fotosensibilizador si la interacción de éste con el polímero es débil, como puede suceder con fotosensibilizadores monoiónicos en medios acuosos de elevada fuerza iónica.

La **unión covalente** es un método de inmovilización mediante enlace químico y aporta la mayor estabilidad posible a los materiales preparados. El soporte, tras una activación

⁹² Spesia, M. B., Milanesio, M. E., Durantini, E. N. "Synthesis, Properties and Photodynamic Inactivation of *Escherichia coli* by Novel Cationic Fullerene C_{60} Derivatives", Eur. J. Med. Chem., **2008**, *43*, 853–861.

previa que le dota de grupos funcionales reactivos adecuados, reacciona con el sensibilizador, dando lugar a un enlace covalente entre sensibilizador y polímero. El procedimiento experimental es mucho más elaborado que los anteriores casos, aunque su complejidad depende de las etapas de síntesis necesarias. Asimismo, este proceso de unión puede alterar las propiedades del fotosensibilizador.⁹³

Se han descrito diversos fotosensibilizadores soportados que se han empleado para la descontaminación química o la inactivación bacteriana a escala de laboratorio. Entre ellos están el azul de metileno o el rosa de bengala atrapados en derivados de silano mediante un proceso sol-gel, porfirinas hidrófobas adsorbidas sobre un derivado de la glucosamina conocido como quitosano, porfirinas hidrófilas unidas a poli(metacrilato de metilo), etc.^{94,95,96,97} Por lo general, estos materiales fotosensibilizadores han sido empleados para la fotodegradación de contaminantes y para la inactivación de microorganismos sólo en experimentos a escala de laboratorio, debido a limitaciones como la estabilidad de los sensibilizadores o la hidrofobicidad de los materiales. Ello compromete su contacto con el agua y por tanto, con las bacterias o contaminantes contenidos en la fase acuosa, o bien por la dificultad de obtención de materiales manejables, poco rígidos y ensamblables en sistemas de fototratamientos de agua de diferentes geometrías que puedan ser adaptables a procesos desarrollados a una mayor escala.

Los complejos de Ru(II) pueden ser inmovilizados sobre diferentes soportes gracias a la versatilidad que le confieren sus ligandos quelatantes y sus grupos funcionales, que permiten dotar a los distintos fotosensibilizadores de carácter catiónico o aniónico, de un carácter hidrófobo o hidrófilo, así como de la posibilidad de formación de enlaces covalentes, según sea necesario. En este sentido, se ha descrito la inmovilización electrostática de complejos catiónicos de Ru(II) sobre un polímero intercambiador de cationes como Nafion[®] (DuPont, EE.UU.) o, por ejemplo, la unión covalente de complejos de Ru(II) a un polímero insoluble derivado de Sephadex[®] o a partículas de vidrio de poro controlado que se podrían emplear para procesos microheterogéneos.^{98,99,100} Por otro lado, la elevada hidrofobicidad del C₆₀ permite su

⁹³ García-Fresnadillo, D., “Fotosensibilización y el Sensibilizador: Síntesis, Propiedades y Limitaciones” en SOLARSAFEWATER: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua, Blanco, J., Blesa, M. A. (eds.), 2005, Escuela de Posgrado UNSAM, Buenos Aires.

⁹⁴ Gryglik, D., Miller, J. S., Ledakowicz, S. “Solar Energy Utilization in Degradation of 2-Chlorophenol by Immobilized Photosensitizers”, Solar Energy, 2004, 77, 615–623.

⁹⁵ Bonnet, R., Krysteva, M. A., Lalov, I. G., Artarsky, S. V. “Water Disinfection Using Photosensitizers Immobilized on Chitosan”, Water Res., 2006, 40, 1269–1275.

⁹⁶ Faust, D., Funken, K. H., Horneck, G., Milow, B., Ortner, J., Sattlegger, M., Schäfer, M., Schmitz, C. “Immobilized Photosensitizers for Solar Photochemical Applications”, Solar Energy, 1999, 65, 71–74.

⁹⁷ Shimakoshi, H., Baba, T., Iseki, Y., Endo, A., Adachi, C., Watanabe, M., Hisaeda, Y. “Photosensitizing Properties of the Porphycene Immobilized in Sol-Gel Derived Silica Coating Films”, Tetrahedron Lett., 2008, 49, 6198–6201.

⁹⁸ García-Fresnadillo, D., Marazuela, M. D., Moreno-Bondi, M. C., Orellana, G. “Luminescent Nafion Membranes Dyed with Ruthenium(II) Complexes as Sensing Materials for Dissolved Oxygen”, Langmuir, 1999, 15, 6451–6459.

⁹⁹ Bourdelande, J. L., Font, J., Marques, G., Abdel-Shafi, A. A., Wilkinson, F., Worral, D. R. “On the Efficiency of the Photosensitized Production of Singlet Oxygen in Water Suspensions of a

inmovilización en materiales poliméricos altamente hidrófobos y también es posible la inmovilización de distintos derivados de C_{60} siguiendo las premisas descritas anteriormente para los complejos de Ru(II) .^{91,101}

Los soportes poliméricos idóneos para el proceso de mejora de la calidad microbiológica del agua, aparte de criterios económicos y de disponibilidad comercial o preparativa, deben cumplir una serie de requisitos:

- Compatibilidad con los fotosensibilizadores seleccionados, permitiendo una robusta inmovilización.
- Geometría y propiedades adecuadas desde el punto de vista de la reología.
- Resistencia mecánica, foto y termoestabilidad.
- Alta permeabilidad al oxígeno molecular para favorecer su interacción con el estado excitado del sensibilizador.
- No promover la desactivación del $^1\text{O}_2$ fotogenerado.
- Cierta grado de biocompatibilidad que favorezca el contacto entre los microorganismos objetivo y los sitios de fotogeneración del $^1\text{O}_2$.

3.2.2 Caracterización fotofísica y fotoquímica de los materiales fotosensibilizadores (sensibilizador inmovilizado en soporte).

Las características asociadas a los fotosensibilizadores se pueden ver afectadas por la inmovilización sobre soportes. Así, es posible que tras la unión del sensibilizador al polímero haya cambios espectrales en la intensidad y máximo de las bandas, que es necesario caracterizar para determinar la eficiencia de absorción de la luz solar, así como las propiedades de los estados excitados de las moléculas de sensibilizador inmovilizadas. Los colorantes usados como fotosensibilizadores así como los materiales con ellos preparados, pueden ser caracterizados a través de sus espectros característicos de reflectancia/transmitancia usando un espectrofotómetro UV-Vis y, empleando un espectrofluorímetro se pueden registrar los correspondientes espectros de emisión. Las medidas de reflectancia difusa en la región UV-Vis, llevadas a cabo con un espectrofotómetro acoplado a una fibra óptica, permiten obtener una información análoga a la proporcionada por los espectros de absorción y, asimismo, analizar la homogeneidad de los soportes teñidos tomando como referencia el soporte sin sensibilizador.

El tiempo de vida del estado excitado del fotosensibilizador (τ_1) es un parámetro que se ve afectado por el entorno en el que se encuentra el sensibilizador pues, en función

tris(bipyridyl)ruthenium(II) Complex Covalently Bound to an Insoluble Hydrophilic Polymer”, J. Photochem. Photobiol. A, **2001**, 138, 65–68.

¹⁰⁰ Xavier, M. P., García-Fresnadillo, D., Moreno-Bondi, M. C., Orellana, G. “Oxygen Sensing in Non-Aqueous Media Using Porous Glass with Covalently Bound Luminiscent Ru(II) Complexes”, Anal. Chem., **1998**, 70, 5184–5189.

¹⁰¹ Goh, S. H., Lee, S. Y., Lu, Z. H., Huan, C. H. A. “ C_{60} -Containing Polymer Complexes: Complexation between Multifunctional 1-(4-methyl)piperazinyl-Fullerene or N-[(2-piperidyl)ethyl]aminofullerene and Proton-Donating Polymers”, Macromol. Chem. Phys., **2000**, 201, 1037–1047.

del medio, se favorecerán de diferente modo los procesos de decaimiento por vía radiante, no radiante o por desactivación con otra especie como puede ser el oxígeno. El parámetro τ_T se puede determinar a través del estudio de luminiscencia con resolución temporal, teniendo en cuenta que, estadísticamente, el tiempo de vida se define como el tiempo transcurrido desde que un conjunto de moléculas se excita hasta que únicamente quedan $1/e$ moléculas ($\sim 37\%$) en el estado excitado. La técnica experimental consiste en excitar la muestra con un breve pulso de luz y, a continuación, registrar la disminución de la intensidad de luminiscencia del compuesto excitado en función del tiempo, $I(t)$. Para ello se emplea un espectrómetro de luminiscencia con resolución temporal. El tiempo de vida, en términos generales, se calcula a partir de la cinética de decaimiento de la emisión del estado excitado de menor energía, que se puede ajustar a una función exponencial:

$$I(t) = I(t_0) \exp(-t/\tau_T) \quad (c)$$

Sin embargo, en el caso de los sistemas (micro)heterogéneos de interés, el estado excitado del fotosensibilizador presenta distintos valores de τ_{Ti} según los diferentes microentornos en que se encuentren las moléculas. Por tanto, para este tipo de sistemas con el sensibilizador inmovilizado en un soporte, la curva de desactivación de los estados excitados se ajusta típicamente a una función multiexponencial:

$$I(t) = A + \sum_i B_i \exp(-t/\tau_{Ti}) \quad (d)$$

En este caso, dada la dificultad para asignar las componentes individuales de tiempo de vida a los múltiples microentornos de moléculas y los factores preexponenciales a diferentes poblaciones de moléculas, lo que se determina es el **tiempo de vida promedio** o tiempo medio de extinción con pesada preexponencial, τ_M ,¹⁰² que se estima a partir de los coeficientes preexponenciales y las componentes del tiempo de vida de emisión según la siguiente ecuación:

$$\tau_M = \frac{\sum_i B_i \tau_{Ti}}{\sum_i B_i} \quad (e)$$

Sólo cuando las diferencias entre los valores de tiempo de vida de emisión de las componentes individuales sean suficientemente grandes (típicamente un factor de cuatro veces), dichos valores podrán atribuirse a microentornos concretos y, por tanto, estimar proporciones de población utilizando para ello los factores preexponenciales del ajuste.^{103,104}

¹⁰² Carraway, E. R., Demas, J. N., DeGraff, B. A., Bacon, J. R. "Luminiscence Quenching Mechanism for Microheterogeneous Systems", *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 332–336.

¹⁰³ Tiseanu, C. D., Kumke, M. U., Frimmel, F. H., Klenze, R., Kim, J. I. "Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy of Fulvic Acid and Fulvic Acid Complexed with Eu^{3+} -A Comparative Study", *J. Photochem. Photobiol. A*, **1998**, 117, 175–184.

Otro parámetro de enorme interés para la caracterización de los materiales fotosensibilizadores es el tiempo de vida del oxígeno singlete (τ_{Δ}) que, como se discutió en el subapartado 2.3.2, es muy dependiente del entorno en el que se genera esta especie por desactivación con O_2 del fotosensibilizador excitado. Este parámetro también se determina a través de un espectrómetro con resolución temporal mediante un análisis cinético similar al llevado a cabo para determinar el tiempo de vida del estado excitado del fotosensibilizador, aprovechando la emisión de fosforescencia característica del oxígeno singlete en la región del infrarrojo cercano, concretamente a 1270 nm.

La probabilidad o fracción de estados de sensibilizador excitado que son desactivados por oxígeno molecular, $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$, se encuentra directamente relacionada con la constante de desactivación bimolecular del sensibilizador por oxígeno molecular, k_q en el material. Para su determinación se realizan medidas de intensidad de emisión de luminiscencia de los fotosensibilizadores excitados o de su tiempo de vida promedio en función de la presencia (I ó τ_{T} , respectivamente) y ausencia de O_2 (I_0 ó $\tau_{\text{T}0}$, respectivamente). En el caso de medios microheterogéneos en presencia de la especie desactivadora, se sustituye τ_{T} por τ_{M} y $\tau_{\text{T}0}$ por $\tau_{\text{M}0}$ en ausencia de la especie desactivadora.

$$P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 1 - \frac{I}{I_0} = 1 - \frac{\tau_{\text{T}}}{\tau_{\text{T}0}} \quad (\text{f})$$

A su vez, la desactivación bimolecular dinámica del estado excitado del fotosensibilizador por el oxígeno molecular se ajusta a la ecuación de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_{\text{T}0}}{\tau_{\text{T}}} = 1 + K_{\text{SV}} [\text{O}_2] \quad (\text{g})$$

siendo K_{SV} la constante de Stern-Volmer:¹⁰⁵

$$K_{\text{SV}} = k_q \tau_{\text{T}0} \quad (\text{h})$$

Respecto al rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete, Φ_{Δ} , se ha de comentar que su estimación para fotosensibilizadores soportados se ve dificultada en comparación con sistemas homogéneos debido a fenómenos de reflexión y dispersión de luz por parte del medio sólido y a la geometría concreta del material.¹⁰⁶ Con este objetivo se han desarrollado materiales de referencia para la determinación de Φ_{Δ} a

¹⁰⁴ Sharman, K. K., Periasamy, A., Ashworth, H., Demas, J. N., Snow, N. H. "Error Analysis of the Rapid Lifetime Determination Method for Double-Exponential Decays and New Windowing Schemes", Anal. Chem., **1999**, 71, 947–952.

¹⁰⁵ Orellana, G. "Fluorescence-Based Optical Sensors" en Optical Chemical Sensors (NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry, Vol. 224), Baldini, F., Chester, A. N., Homola, J., Martellucci, S. (eds), **2006**, Springer, Heidelberg.

¹⁰⁶ Lagorio, M. G., San Román, E. "How Does Light Scattering Affect Luminiscence?", J. Chem. Ed., **2002**, 79, 1362–1367.

partir de medidas de emisión del $^1\text{O}_2$ a 1270 nm,¹⁰⁷ y también se pueden emplear sistemas de atrapamiento de oxígeno singlete basados en la reacción del $^1\text{O}_2$ con sustratos cuyas propiedades espectrales cambian por la reacción y cuya variación es correlacionable con el número de moléculas de $^1\text{O}_2$ fotogeneradas,⁹¹ si bien estos últimos sólo permiten capturar el oxígeno singlete liberado al medio externo al material polimérico. En este sentido, hay que tener en cuenta que, independientemente del tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ generado en el seno del material en el que el fotosensibilizador se encuentre inmovilizado, el $^1\text{O}_2$ liberado posee un tiempo de vida de 3–4 μs en agua. Acudiendo a expresiones difusionales del tipo:

$$x^2 = 2 D_{\text{O}_2} \tau_A \quad (\text{i})$$

donde el coeficiente de difusión del O_2 , D_{O_2} , corresponde a $2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ en agua, se puede estimar un recorrido libre del oxígeno singlete de unos 0,1 μm .¹⁰⁸ Por todo lo anterior y dado que cuando el $^1\text{O}_2$ se genera en un medio microheterogéneo, parte puede escapar al exterior del material, pero parte puede ser desactivado en el propio polímero, los rendimientos cuánticos de generación de $^1\text{O}_2$ que se pueden determinar para fotosensibilizadores soportados son, por lo general, aparentes u operacionales, en lugar de totales.

3.3. Sistemas de fotodesinfección.

Tras la selección y caracterización de polímeros apropiados para la inmovilización de los fotosensibilizadores de interés y teniendo en cuenta las peculiaridades de los materiales heterogéneos en comparación con los sistemas homogéneos, los materiales fotosensibilizadores de trabajo se pueden utilizar para la mejora de la calidad bacteriológica del agua. Para ello, los materiales fotosensibilizadores preparados han de estar en contacto con el agua a tratar y, al mismo tiempo, se ha de conseguir la adecuada absorción de radiación por el material. Con objeto de ensayar la capacidad de desinfección de agua de los distintos materiales fotosensibilizadores se pueden emplear dispositivos a pequeña escala que pueden servir de punto de partida para el desarrollo de sistemas solares de desinfección de agua a mayor escala, con una configuración tal que permita optimizar el aprovechamiento de la radiación solar y el proceso de fotocatalisis.

En bibliografía se describen diferentes *simuladores de reactor solar a escala de laboratorio* para llevar a cabo procesos de fotocatalisis para diversas aplicaciones, como es el caso de un nanorreactor de vidrio aplicado a síntesis química empleando rosa de bengala como sensibilizador en fase homogénea e irradiación procedente de una

¹⁰⁷ Wetzler, D. E., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. “A Clean, Well-Defined Solid System for Photosensitized $^1\text{O}_2$ Production Measurements”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2006**, 8, 2249–2256.

¹⁰⁸ Berg, H. C. “Random Walks in Biology”, **1983**, Princeton University Press, Princeton, p. 10.

lámpara de tungsteno.¹⁰⁹ Otros microrreactores descritos corresponden al uso de botellas de plástico y de vidrio Pyrex[®] que contienen TiO_2 soportado en su interior, que son irradiadas con luz UV para la detoxificación y la mejora de la calidad microbiológica de volúmenes reducidos de agua.⁵² Otro ejemplo aplicado en química fina consiste en el empleo de dos microrreactores de vidrio en los que, como especie fotosensibilizadora, se usa un compuesto de Ru(II) y diodos emisores de luz o LEDs como fuente de irradiación.¹¹⁰

No obstante, para la obtención de agua de consumo doméstico es necesario el tratamiento de volúmenes de agua en el orden de los litros, para lo que se pueden emplear *reactores solares* que utilicen materiales fotocatalíticos. De entre los diferentes elementos y componentes que constituyen los reactores solares, sus correspondientes colectores de radiación constituyen un elemento destacado.

Colectores solares.

Los colectores solares se emplean en diferentes aplicaciones como son el suministro de agua caliente doméstica, la desalinización, en síntesis fotoquímica o en el fototratamiento del agua. Es esta última la aplicación de interés, en la que se puede encuadrar la fotosensibilización. La radiación es recogida por los espejos captadores de radiación, siendo dirigida sobre un absorbedor de radiación que puede disponerse en un punto o en una línea focal o bien tener disposición plana o tubular. La configuración tubular de los receptores de la radiación es la forma más práctica y natural de trabajar con líquidos impulsados a cierta presión.¹¹¹ En función del nivel de concentración de la radiación solar recogida, que viene definido por el denominado factor de concentración, se diferencian varios tipos de colectores solares:¹¹²

- *Sistemas no concentradores*: Son estáticos, sin seguimiento solar. Suelen ser placas de forma plana y, para maximizar la captación solar, se disponen orientadas con su eje longitudinal en dirección Este-Oeste y con una inclinación igual a la latitud geográfica correspondiente, cara al Sur en el hemisferio Norte o cara al Norte en el hemisferio Sur. No producen una elevación significativa de temperatura en su interior.
- *Sistemas de concentración media*: Por lo general, concentran la luz entre 5 y 50 veces, lo que permite reducir el área receptora de radiación con respecto al área colectora, para lo que requieren un sistema de seguimiento solar y provocan una elevación moderada de temperatura en el lugar de enfoque. Destacan los

¹⁰⁹ Wooton, R. C. R., Fortt, R., Mello, A. J. “A Microfabricated Nanoreactor for Safe, Continuous Generation and Use of Singlet Oxygen”, Org. Proc. Res. Dev., **2002**, 6, 187–189.

¹¹⁰ Meyer, S., Tietze, D., Rau, S., Schäfer, B., Kreisel, G. “Photosensitized Oxidation of Citronellol in Microrreactors”, J. Photochem. Photobiol. A, **2007**, 186, 248–253.

¹¹¹ Kalogirou, S. A., “Solar Thermal Collectors and Applications”, Progres. Energy Combust. Sci., **2004**, 30, 231–295.

¹¹² Malato, S., Blanco, J., Maldonado, M. I., Fernández, P., Alarcón, D., Collares, M., Farinha, J., Correia, J. “Engineering of Solar Photocatalytic Collectors”, Solar Energy, **2004**, 77, 513–524.

colectores cilindro-parabólicos y los colectores holográficos; los primeros tienen una superficie reflectante con forma de parábola que concentra la radiación en el receptor tubular situado en el foco de dicha parábola, siendo lo normal que este tipo de dispositivos sean de seguimiento en un solo eje (Este-Oeste o bien un seguimiento en elevación). Los colectores holográficos consisten en superficies reflectantes similares a las lentes convexas que desvían la radiación al mismo tiempo que la concentran en un foco lineal.

- *Sistemas de alta concentración*: Suponen una elevación considerable de temperatura, de más de 400 °C, y se caracterizan por tener un punto focal. Están basados en un paraboloide con seguimiento solar. Los valores típicos del factor de concentración solar están en el intervalo de 100 a 1000 y, para ello, se necesitan elementos de alta precisión óptica. En este grupo se incluyen los discos parabólicos, los sistemas de torre central y los hornos solares.

Los tipos de colectores solares que se muestran como más adecuados en procesos de fotocátalisis solar se corresponden con los denominados **colectores cilindro-parabólico compuestos (CPC)**.^{113,114} Son una evolución de los sistemas planos estáticos y, aunque comenzaron a emplearse en la década de los años 70, es en los últimos años en los que, por cuestiones de sencillez, economía y efectividad, se han aplicado a procesos principalmente de fotocátalisis. Se trata de sistemas no concentradores estáticos basados en los principios de la óptica difusa, no productora de imágenes (“*non-imaging optics*”), u óptica anidólica, mientras que los sistemas colectores convencionales están basados en la óptica productora de imágenes, pues concentran la radiación sobre una región focal que, por tanto, depende del vector de dirección de la radiación incidente. Por su parte, los colectores de tipo CPC captan toda la radiación que llega dentro del denominado ángulo de aceptación del colector, que no es otra cosa que su área de apertura, de manera que realmente no concentran la radiación sino que aprovechan todo el flujo de radiación incidente desde un amplio ángulo y consiguen distribuirla sobre los tubos aceptores (Figura 17). Por los mismos motivos, los sistemas concentradores sólo aprovechan la radiación directa, mientras que la radiación difusa, por no tener un vector definido, no la pueden concentrar y, por tanto, no se aprovecha. Sin embargo, los dispositivos CPC sí pueden beneficiarse de dicha radiación que, aunque corresponde a una pequeña fracción de la radiación total, supone una buena parte de la radiación UV incidente, que es difusa por efecto del vapor de agua atmosférico. De esta manera, los colectores de tipo CPC son capaces de aprovechar la totalidad de la radiación incidente de interés en el proceso de

¹¹³ Bandala, E. R., Arancibia-Bulnes, C. A., Orozco, S. L., Estrada, C. A. “Solar Photoreactors Comparison Based on Oxalic Acid Photocatalytic Degradation”, *Solar Energy*, **2004**, 77, 503–512.

¹¹⁴ McLoughlin, O. A., Kehoe, S. C., McGuigan, K. G., Duffy, E. F., Al Touati, F., Gernjak, W., Alberola, I. O., Malato, S., Gill, L. W. “Solar Disinfection of Contaminated Water: a Comparison of Three Small-Scale Reactors”, *Solar Energy*, **2004**, 77, 657–664.

fotosensibilización, tanto en la región UV-A como Vis, si el colector está adecuadamente diseñado para la geometría de la superficie receptora.¹¹⁵

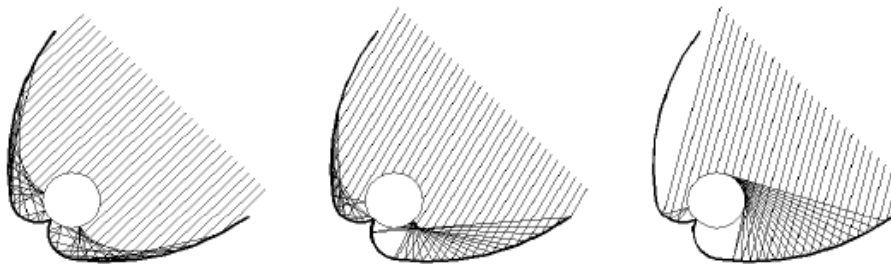


Figura 17. Aprovechamiento de radiación solar incidente en un colector de tipo CPC sobre un tubo receptor transparente.¹¹⁵

Los colectores CPC, aparte de este eficiente aprovechamiento de la radiación solar, no dan lugar a un calentamiento destacado del agua a tratar y los costes asociados al sistema son relativamente bajos, al no ser necesario realizar un seguimiento solar.⁴³ A estas características propias de los sistemas estáticos hay que añadir las ventajas correspondientes a los sistemas cilindro-parabólicos, pues un sistema receptor tubular en vez de plano permite impulsar líquidos a cierta presión y diseñar circuitos cerrados de agua. Además, dadas las óptimas propiedades ópticas del sistema, el área de absorción es pequeña con respecto al área colectora de radiación, lo que permite que el circuito tubular pueda ser relativamente corto y las dimensiones totales de los dispositivos no sean relativamente elevadas, economizándose el espacio requerido para instalar el reactor solar.¹¹²

Los colectores CPC están contruidos con un material reflectante a modo de espejo que refleja la radiación incidente sobre los tubos receptores que, a su vez, han de permitir el paso de la radiación solar para que ésta incida sobre el material fotosensibilizador que estará dispuesto en su interior, en contacto con el agua a tratar. En función de la disposición del material fotocatalítico en el interior de los tubos se puede variar el aprovechamiento fotónico de la radiación incidente por parte del fotosensibilizador inmovilizado y el volumen de agua sobre la superficie fotosensibilizadora.

Cinética de desinfección.

El empleo de materiales fotosensibilizadores adecuados, tanto en microrreactores de laboratorio como en reactores solares de mayor escala de tratamiento, requiere tener en cuenta una serie de variables y parámetros operacionales que pueden afectar a la eficiencia de fotodesinfección de agua. De esta manera, es necesario considerar aspectos como son la cantidad de radiación incidente, la disposición del material

¹¹⁵ Blanco, J. “*Desarrollo de Colectores Solares CPC para Aplicaciones Fotoquímicas de Degradación de Contaminantes Persistentes en Agua*”, 2003, Ed. Ciemat, Madrid.

fotosensibilizador, la cantidad de agua a tratar y su régimen de circulación o la temperatura de la misma.

Para poder estimar la eficiencia de desinfección en los procesos de fototratamiento de agua por parte de los sistemas de trabajo, se requiere un estudio cinético. Las cinéticas de desinfección, en términos generales, pueden asimilarse a una cinética química de primer orden, de acuerdo con el modelo clásico de Chick-Watson que, para fotocátalisis, toma la siguiente forma:

$$N = N_0 e^{-kt} \quad (\text{j})$$

donde N y N_0 representan, respectivamente, la concentración bacteriana en función del tiempo t y la carga inicial de microorganismos (UFC mL^{-1}), y donde k (s^{-1}) es la constante de inactivación bacteriana.⁴³

En los procesos fotocatalíticos se ha de tener en cuenta que el empleo del tiempo de irradiación como variable operacional sólo es correcto en el caso de que la cantidad de radiación incidente sea constante a lo largo del tiempo, como sucede al utilizar lámparas artificiales, o incluso si se emplea la radiación solar UV global, menos variable que la radiación visible, durante periodos de tiempo y condiciones geográficas comparables.¹¹⁶ En estos casos y con objeto de comparar entre procesos de desinfección, se puede emplear dicho modelo empírico o bien simplemente la tasa de inactivación media de los microorganismos a lo largo del tiempo. Sin embargo, cuando se utiliza la radiación solar, el parámetro adecuado de trabajo no es el tiempo, dada la variabilidad en la irradiación. De acuerdo con la ley de reciprocidad, en lugar de t es posible considerar la fluencia (H_0 , J m^{-2}) o bien la dosis de radiación acumulada por unidad de volumen (Q , $\text{J m}^{-2} \text{L}^{-1}$), que provienen de computar la irradiancia (E , W m^{-2}) a lo largo del tiempo de exposición solar correspondiente. De esta manera, el modelo de Chick-Watson puede expresarse como:

$$N = N_0 e^{-k'H_0} \quad \text{ó} \quad N = N_0 e^{-k''Q} \quad (\text{k})$$

con lo que la constante de inactivación bacteriana (k) adquiere unidades de $\text{J}^{-1} \text{m}^2$ o bien de $\text{J}^{-1} \text{m}^2 \text{L}$.¹¹⁷

Este modelo clásico, si bien es muy útil y empleado en bibliografía, es un modelo simplificado, puesto que las curvas de supervivencia bacteriana representadas en escala semilogarítmica presentan, por lo general, un hombro o una zona de decrecimiento suave al comienzo de las mismas antes de su decaimiento pronunciado, suavizándose en su tramo final hasta alcanzar la desinfección. Este hombro se asocia a una etapa de inducción en el daño celular debida a los mecanismos de regeneración de los

¹¹⁶ Schultz-Fademrecht, C., Wichern, M., Horn, H. "The Impact of Sunlight on Inactivation of Indicator Microorganisms both in River Water and Benthic Biofilms", *Water Res.*, **2008**, 42, 4771–4779.

¹¹⁷ Sozzy, D. A., Taghipour, F. "UV Reactor Performance Modeling by Eulerian and Lagrangian Methods", *Environ. Sci. Technol.*, **2006**, 40, 1609–1615.

microorganismos, lo que origina una especie de fase “lag” o de latencia.¹¹⁸ Existen otros modelos cinéticos más sofisticados, algunos de ellos basados en la modificación del modelo de Chick-Watson, que permiten mejorar los ajustes en los procesos de inactivación bacteriana.^{118,119}

Por otra parte, a la hora de analizar los procesos de fotodesinfección empleando reactores solares, se han de considerar diferentes contribuciones como la fotosensibilización mediada por oxígeno singlete y la inactivación solar directa (“efecto SODIS”) que comprende el efecto combinado de la radiación UV–A más la temperatura. Asimismo, una particularidad de los sistemas heterogéneos de tratamiento de agua es una mayor lentitud en las cinéticas de inactivación bacteriana en comparación con los sistemas homogéneos, debido a la necesidad de la adsorción de los microorganismos sobre el material fotocatalítico. La consideración de este efecto dificulta en gran medida el modelado de las cinéticas de desinfección empleando materiales fotocatalíticos soportados, como por ejemplo el TiO_2 .¹²⁰

¹¹⁸ Salih, F. M. “*Formulation of a Mathematical Model to Predict Solar Water Disinfection*”, Water Res., **2003**, 37, 3921–3927.

¹¹⁹ Xiong, R., Xie, G., Edmondson, A. E., Sheard, M. A. “*A Mathematical Model for Bacterial Inactivation*”, Int. J. Food Microbiol., **1999**, 50, 1–17.

¹²⁰ Marugán, J., van Grieken, R., Sordo, C., Cruz, C. “*Kinetics of the Photocatalytic Disinfection of Escherichia coli Suspensions*”, Appl. Catal. B: Environ., **2008**, 82, 27–36.

DESARROLLO EXPERIMENTAL.

1. FOTSENSIBILIZADORES DE TRABAJO.

1.1. Complejos luminiscentes de Ru(II).

Los complejos de Ru(II) seleccionados para este trabajo de Tesis son de tipo homoléptico $[\text{Ru}(\text{L}_3)]^{2+}$, *i.e.* con los tres ligandos bidentados iguales (Figura 18): tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolina)rutenio(II), abreviado **RDP**²⁺, tris(4,4'-difenil-2,2'-bipiridina)rutenio(II), abreviado **RDB**²⁺, tris(4,4'-dinonil-2,2'-bipiridina)rutenio(II), abreviado **RBN**²⁺ y tris(1,10-fenantrolinil-4,7-bis(bencenosulfonato)rutenato(II), abreviado **RSD**⁴⁻. Estos complejos, tres cationes hidrófobos (RDP²⁺, RDB²⁺ y RBN²⁺) y un anión hidrófilo (RSD⁴⁻), han sido sintetizados y purificados previamente en nuestro laboratorio a partir de los correspondientes ligandos quelatantes comerciales, de acuerdo con procedimientos establecidos.⁷³ Se ha de destacar que la citotoxicidad de los fotosensibilizadores basados en Ru(II) es limitada, puesto que estos compuestos metal-orgánicos no son capaces de penetrar la membrana de células viables.¹²¹

¹²¹ Jiménez-Hernández, M. E., Orellana, G., Montero, F., Portolés, M. T., “*A Ruthenium Probe for Cell Viability Measurement Using Flow Cytometry, Confocal Microscopy and Time-Resolved Luminescence*”, Photochem. Photobiol., **2002**, 72, 28–34.

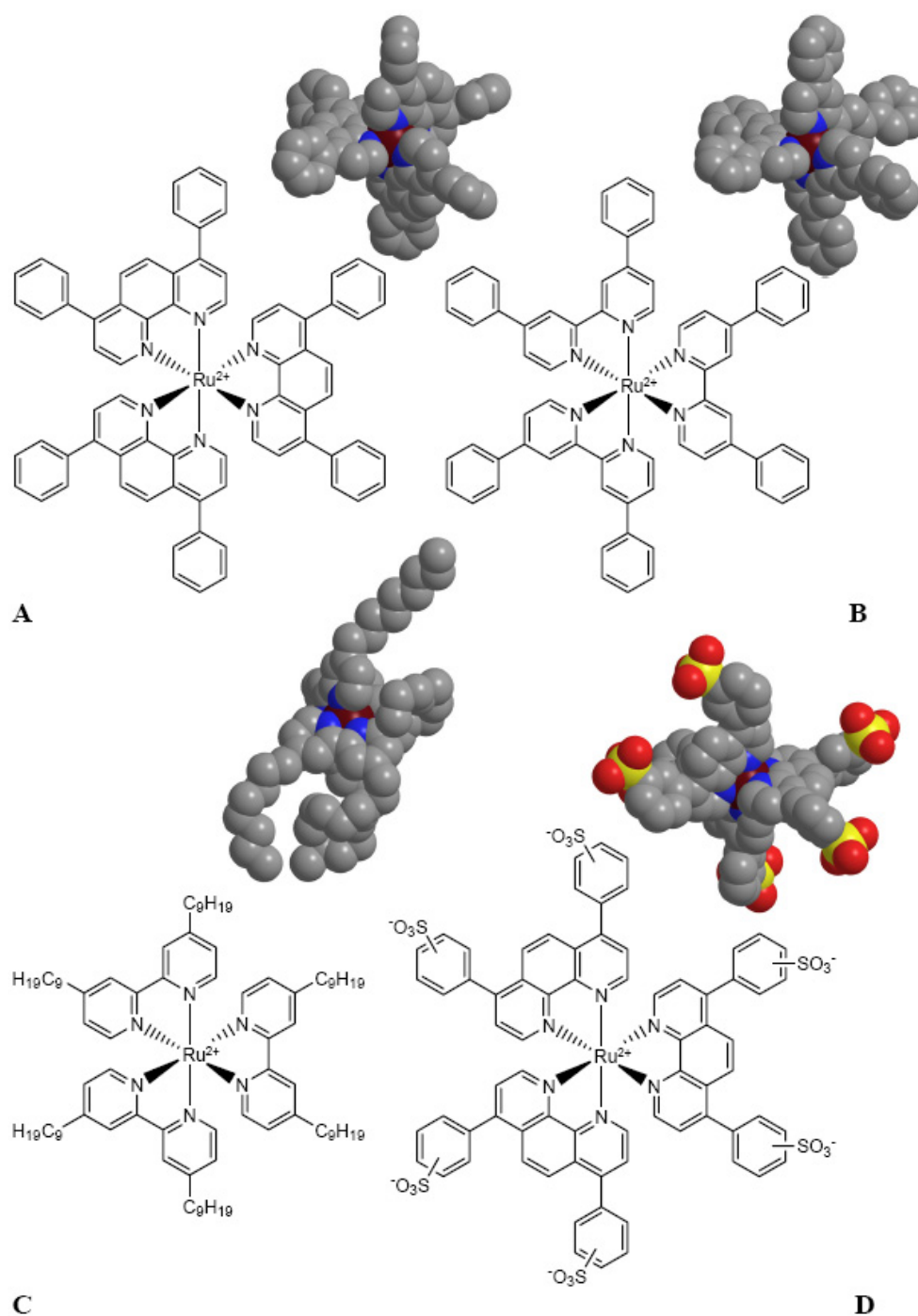


Figura 18. Estructura en 2D y 3D de los compuestos de coordinación de Ru(II) seleccionados como sensibilizadores, (A) RDP²⁺, (B) RDB²⁺, (C) RBN²⁺ y (D) RSD⁴⁻. En las estructuras se han omitido los átomos de H para una mayor claridad.

1.2. Fullerenos (C_{60}) y un derivado de C_{60} como fotosensibilizadores.

El fullereno, así como muchos derivados del mismo, no parecen mostrar citotoxicidad, en gran parte debido a su insolubilidad en medios acuosos.^{122,123} Por otra parte, como se ha comentado en el subapartado 3.1.2 correspondiente a la parte de la [Introducción](#), el fullereno, así como diversos compuestos derivados del mismo son interesantes fotosensibilizadores, dado que han demostrado óptimas propiedades como son una elevada absorción de radiación UV/Visible, elevados rendimientos cuánticos asociados al proceso de sensibilización (Φ_{CIS} y Φ_{A}), tiempos de vida del estado triplete excitado adecuados o asequibilidad económica. Asimismo, los derivados de C_{60} pueden facilitar su inmovilización sobre soportes adecuados gracias a la modulación de los grupos funcionales. En ese sentido y de acuerdo con Goh *et al.*,¹⁰¹ se ha seleccionado como sensibilizador un derivado catiónico del fullereno, el 1-(4-metil)-piperazinilfullereno, abreviado como **MPF**, cuya estructura se muestra en la [Figura 19](#) con objeto de inmovilizarlo sobre diversos soportes.

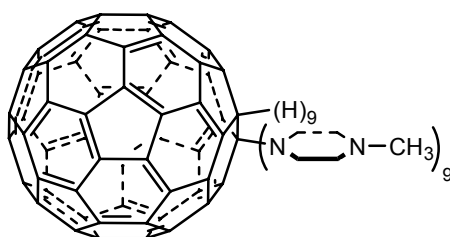


Figura 19. Estructura de MPF como derivado de C_{60} .

2. POLÍMEROS DE SOPORTE DE LOS FOTOSENSIBILIZADORES.

La acción fotodinámica en el agua requiere la proximidad entre los microorganismos y el fotosensibilizador, dado el corto tiempo de vida del oxígeno singlete en agua, teniendo en cuenta además que los sensibilizadores deben de estar soportados para evitar su presencia en el agua de consumo. Asimismo, las atracciones o repulsiones electrostáticas entre el fotosensibilizador o el material fotosensibilizador (sensibilizador y soporte polimérico) y los microorganismos son otro factor importante a considerar, dado que la pared bacteriana posee carga neta negativa. Todo esto lleva a que la carga electrostática y la naturaleza fisicoquímica de los complejos jueguen un papel importante, no sólo en la inmovilización sobre un soporte adecuado, sino en la propia desinfección. Teniendo en cuenta lo anterior, así como las características deseables en

¹²² Sayes, C. M., Gobin, A. M., Ausman, K. D., Méndez, J., West, J. L., Colvin, V. L. "Nano- C_{60} Cytotoxicity Is Due to Lipid Peroxidation", *Biomaterials*, **2005**, 26, 7587–7595.

¹²³ Fang, J., Lyon, D. Y., Wiesner, M. R., Dong, J., Álvarez, P. J. J. "Effect of a Fullerene Water Suspension on Bacterial Phospholipids and Membrane Phase Behavior", *Environ. Sci. Technol.*, **2007**, 41, 2636–2642.

los materiales de soporte de fotosensibilizadores, descritas previamente en el [apartado 3.2](#) de la [Introducción](#), los soportes poliméricos seleccionados para desarrollar este trabajo han sido los siguientes:

- Derivado catiónico del nylon, denominado **Ny⁺** (Millipore, EE.UU.).
- Derivado catiónico de la celulosa, denominado **Cel⁺** (Sleicher & Schuell, Alemania).
- Derivado catiónico de difluoruro de polivinilideno como polímero orgánico lineal, denominado **PVDF⁺** (Millipore, EE.UU.).
- Silicona porosa (poli(dimetilsiloxano)) en forma de cilindro hueco, bajo denominación ImmobaSil[®], aquí denominado **pSil-i** (Ashby Scientific, Reino Unido).
- Silicona porosa de poli(dimetilsiloxano) en forma de tiras, denominada CulturSil[®], denominado **pSil** (Cellon, Luxemburgo).
- Siliconas porosas pSil de carácter aniónico y catiónico, funcionalizadas a partir de pSil mediante un proceso químico desarrollado por Bionic Surfaces (Alemania),¹²⁴ denominadas **pSil⁻** y **pSil⁺**.

Dadas las características hidrófobas, hidrófilas e iónicas de los fotosensibilizadores y la naturaleza iónica o neutra de los soportes de trabajo, los procesos de inmovilización se han llevado a cabo mediante adsorción o por interacciones electrostáticas, obteniendo materiales fotosensibilizadores de gran homogeneidad y de modo muy reproducible. De esta manera se simplifican los procesos de anclaje y se minimiza la posible modificación de las propiedades de los fotosensibilizadores. Los derivados de carácter comercial de nylon, celulosa y difluoruro de polivinilideno se presentan como películas flexibles con superficie funcionalizada por grupos amonio, que permiten unir complejos de Ru(II) de carácter aniónico como el RSD⁴⁻ a través de interacción electrostática para dar lugar a los correspondientes materiales fotosensibilizadores **RSD/Ny⁺**, **RSD/Cel⁺** y **RSD/PVDF⁺**. El material poroso de silicona, ya sea en forma de cilindros o con geometría plana, es un material muy lipófilo que permite la adsorción de fotosensibilizadores poco hidrófilos mediante interacciones hidrófobas. De esta manera se han preparado **RDP/pSil-i**, **RBN/pSil-i**, **RDP/pSil**, **RDB/pSil**, **MPF/pSil** y **C₆₀/pSil**. El material pSil funcionalizado con grupos iónicos se ha empleado para unir electrostáticamente distintos sensibilizadores de carga opuesta, preparando así los materiales **RSD/pSil⁺**, **RDP/pSil⁻** y **MPF/pSil⁻**. La imagen de algunos de estos materiales fotosensibilizadores preparados se muestra en la [Figura 20](#).

¹²⁴ <http://www.bionicsurfaces.de>

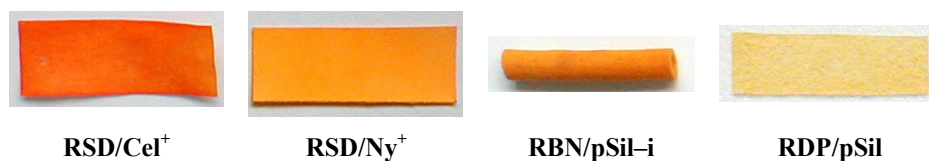


Figura 20. Imágenes de varios materiales fotosensibilizadores preparados (pSil-i: longitud de 50 mm, diámetro interno de 2,5 mm y diámetro externo de 4 mm; para el resto de materiales, 8 x 35 mm, aprox.).

Todos los soportes seleccionados permiten la inmovilización de fotosensibilizadores de acuerdo con los criterios anteriormente comentados, carecen de grupos funcionales que puedan favorecer la desactivación del oxígeno singlete fotogenerado y, de modo general, son bastante resistentes a ataques biológicos y químicos, además de poseer una buena estabilidad mecánica y termoestabilidad. Materiales como el Ny^+ , Cel^+ y PVDF^+ presentan carácter hidrófilo y favorecen el contacto con la fase acuosa que contiene los microorganismos a eliminar. Según el material, ciertas propiedades se ven potenciadas, como es el caso de Ny^+ , que muestra una elevada resistencia y elasticidad o Cel^+ que permite el flujo de agua a su través. Por otro lado, en el caso de la silicona porosa, se trata de un material comercial biocompatible que habitualmente se emplea para el cultivo de células.¹²⁵ Su estructura posee una porosidad del 40% en volumen, con un área específica en torno a $50.000 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ gracias a su estructura de microporos interconectados, lo que favorece la transferencia de masa en su interior y le confiere unas óptimas características hidrodinámicas. Todo ello hace que este material basado en poli(dimetilsiloxano), con una densidad de $1,065 \text{ g cm}^{-3}$, sea adecuado para trabajar en el seno de un medio acuoso. Además, dicho material soporta tratamientos en autoclave (121°C , 2 atm, 16 min). Entre sus diferentes configuraciones, el pSil en forma de membrana es más útil que el pSil con configuración cilíndrica hueca por ser más adaptable y de manejo más sencillo, ya que puede ser dispuesto fácilmente sobre superficies inertes como vidrio o plástico. Las membranas porosas de pSil se fabricaron por Cellon bajo encargo y de acuerdo a nuestras necesidades. Consisten en una fina capa de 0,5 mm de espesor de silicona porosa dispuesta sobre otra capa de silicona no porosa de $1500 \times 35 \times 1 \text{ mm}$. En la Figura 21 se muestran imágenes ampliadas de la estructura porosa de pSil colonizado por bacterias.

¹²⁵ Perry, S. R., Knights, A. J. “Use of Porous Silicone Rubber as a Support Matrix for Immobilized Yeast Cells” en I. Chem. E. Research Event, **1993**, Rugby, Birmingham.

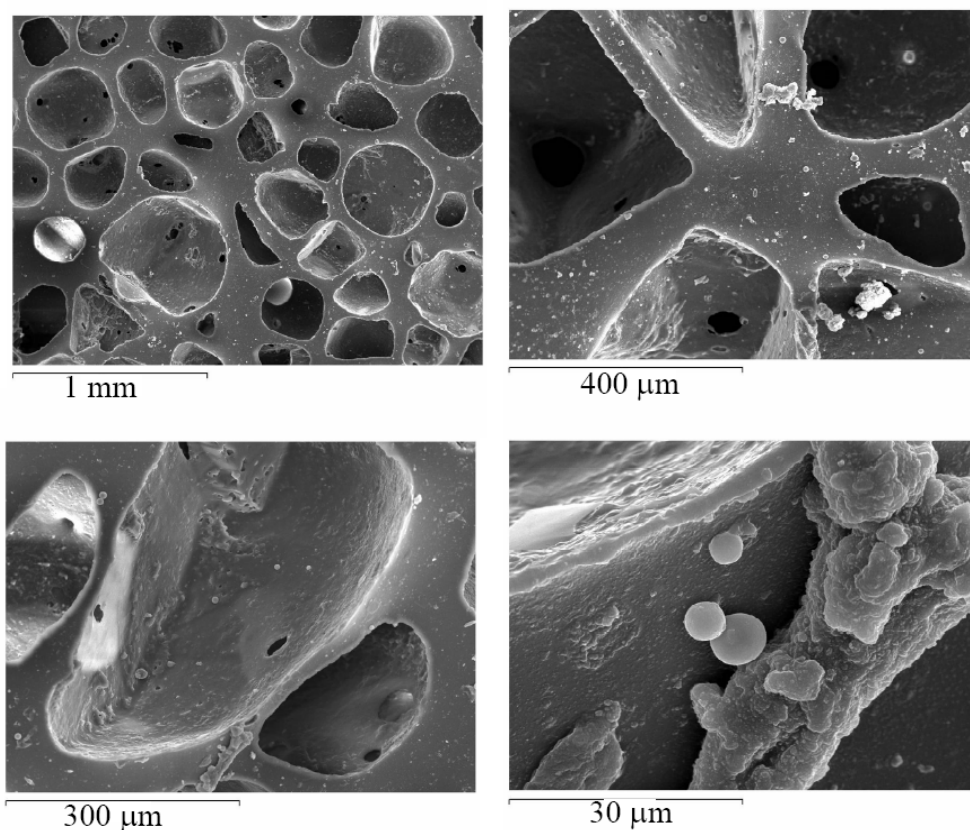


Figura 21. Imágenes del soporte de tipo pSil colonizado por bacterias (tamaño $\sim 1 \mu\text{m}$) mediante microscopía electrónica de barrido (Servicio de Microscopía Electrónica, UCM).

Una ventaja adicional del pSil como material para soportar a los fotosensibilizadores es su gran permeabilidad al oxígeno (elevados coeficientes de difusión y solubilidad). En condiciones normales de presión y temperatura, el coeficiente de solubilidad del oxígeno en la silicona es, aproximadamente, de $3 \times 10^{-6} \text{ cm}^3 \text{O}_2 \text{ cm}^{-3} \text{silicona Pa}^{-1}$, con una baja influencia de la temperatura en condiciones ambientales.¹²⁶ Esto supone, de acuerdo con la ley de Henry, una solubilidad unas 10 veces mayor que la solubilidad del oxígeno en agua.¹²⁷ Por otra parte, la difusión del oxígeno en pSil es muy elevada, con un coeficiente de difusión, D_{O_2} , de $1,2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$, sólo algo inferior al correspondiente al oxígeno en un medio líquido como es el agua ($2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$).^{108,127,128} Estas características son el origen de la elevada permeabilidad del pSil a este gas ($300\text{--}400 \times 10^{-13} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$), varios órdenes de magnitud superior respecto a los soportes alternativos (alrededor de $0,03 \times 10^{-13}$, $1,5 \times 10^{-13}$ y $3 \times 10^{-13} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ para los materiales basados en nylon, celulosa y PVDF, respectivamente).¹²⁶

¹²⁶ Immergut, E. H., Brandrup, J. “*Polymer Handbook*”, **1989**, Wiley, New York.

¹²⁷ “*Oxygen and Ozone, IUPAC Solubility Data Series Vol. 7*”, Battino, R. (ed.), **1981**, Pergamon Press, Oxford.

¹²⁸ Wolfbeis, O. S. “*Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*”, **1991**, CRC Press, Boca Raton, Florida.

3. FOTORREACTORES PARA LA DESINFECCIÓN DE AGUA.

Con objeto de estudiar la eficiencia en la inactivación bacteriana de los materiales fotosensibilizadores preparados, se ha diseñado y construido un sistema a escala de laboratorio capaz de poner en contacto el material sensibilizador irradiado con la fase acuosa circulante en la que se inocula una carga bacteriana conocida, a partir del cual se han desarrollado dos prototipos de reactor solar para el tratamiento de agua a mayor escala, basados en tecnología CPC por su adecuación en procesos fotocatalíticos. Los diferentes sistemas han sido utilizados para la desinfección de aguas contaminadas con dos tipos de bacteria seleccionados, *E. coli* o *E. faecalis*, y para unas concentraciones iniciales en el intervalo 10^2 – 10^4 UFC mL^{-1} , que corresponden a cargas bacterianas comparables con la carga presente de manera habitual en aguas naturales existentes en las poblaciones beneficiarias del sistema que se pretende desarrollar.

3.1. Simulador solar a escala de laboratorio.

Los ensayos correspondientes al presente trabajo se han llevado a cabo en un sistema de elaboración propia con circulación de agua en circuito cerrado que entra en contacto con el material sensibilizador dispuesto en un receptáculo cilíndrico transparente a la radiación UV–Vis de interés. La disminución de la carga bacteriana por acción fotodinámica se controla por extracción periódica de alícuotas de muestra. Para poder tener en cuenta efectos ajenos a la fotosensibilización, el sistema está constituido por dos microrreactores idénticos e independientes, de manera que en uno de ellos se dispone el material fotosensibilizador a ensayar y en el otro una muestra de polímero sin sensibilizador, que actúa como referencia. Los dos microrreactores gemelos son de vidrio pyrex de borosilicato y provienen de modificar tubos de vidrio comerciales con rosca (Afora, España) en un taller de vidrio. La radiación proviene de una lámpara de xenon de 150 W (Oriel, EE.UU.) como simulador solar, por generar un espectro continuo similar al del sol en el intervalo 250–3000 nm. Para evitar la inactivación bacteriana por causas diferentes a la acción del oxígeno singlete fotogenerado, se emplean dos filtros que eliminan radiación UV e IR. Para eliminar la radiación ultravioleta dañina para los microorganismos se adapta a la lámpara un filtro de corte a 373 nm usado en cámaras fotográficas (Kenko UV, Japón). La radiación IR que puede producir un aumento de temperatura en la fase acuosa se elimina empleando un filtro de 10 cm de agua. Las suspensiones bacterianas se recirculan desde los correspondientes depósitos por medio de una bomba peristáltica (Gilson, EE.UU.) a través de sendos circuitos cerrados constituidos por tubos comerciales flexibles y biocompatibles de silicona (HGS, Japón) y tubos de Tygon® (Saint-Gobain, Francia), ambos de unos 2 mm de diámetro interno, conectados entre sí y a los microrreactores roscados. El material fotosensibilizador y su blanco de referencia se disponen en el interior de sendos microrreactores, situando uno encima del otro y de modo que la radiación

proveniente de la lámpara de xenon incide perpendicularmente sobre todo el área de una de las caras del material. En el caso de materiales basados en pSil plano, estos se disponen con la parte porosa enfrentada a la radiación incidente. En la Figura 22 se describe el sistema de fotodesinfección a escala de laboratorio empleado para los diferentes experimentos.

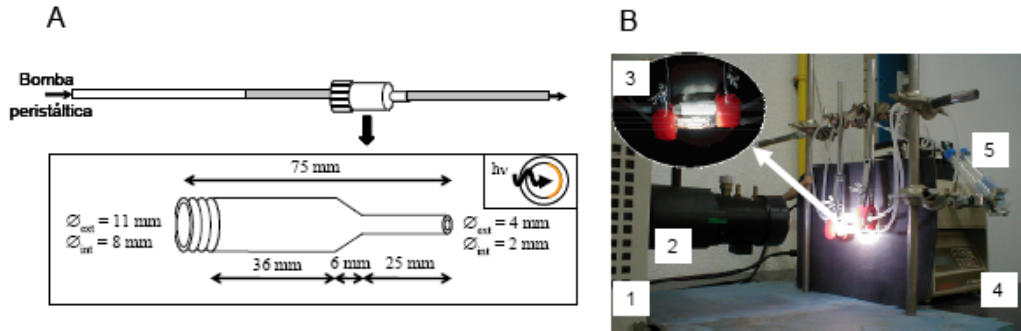


Figura 22. (A) Esquema del microrreactor de vidrio y sus dimensiones, con detalle de la sección transversal del tubo con material fotosensibilizador; (B) Sistema de fotodesinfección a escala de laboratorio compuesto por (1) simulador solar, (2) filtros de IR y UV-B, (3) microrreactores, (4) bomba peristáltica y (5) depósitos de agua.

Los microrreactores se disponen a unos 10 cm de la fuente de radiación, distancia a la que la irradiancia, E , corresponde a unos 20 W m^{-2} en el intervalo de radiación UV-Vis que permiten los filtros de corte de la lámpara. El área de material fotosensibilizador iluminado, A_{ilum} , corresponde, aproximadamente, a 2×10^{-4} y $3 \times 10^{-4} \text{ m}^2$, según se trate de materiales con configuración cilíndrica o plana, respectivamente. En todos los experimentos llevados a cabo con el fotosistema de laboratorio se selecciona un volumen, V , de muestra a tratar de unos 10 mL y un caudal de trabajo, q_V , de unos $0,25 \text{ mL min}^{-1}$. Bajo estas condiciones de trabajo, constantes en los distintos experimentos llevados a cabo con este sistema (Tabla 7), se permite aumentar la vida de los tubos Tygon y evitar el estrés celular por acción mecánica de la bomba peristáltica.

Tabla 7. Parámetros operacionales (volumen de agua a tratar por experimento, área de fotosensibilizador iluminado, relación entre volumen y área, relación entre el volumen de agua iluminada respecto al volumen total, caudal e irradiancia) empleando los diferentes materiales fotosensibilizadores en los microrreactores.

	V / L	$A_{\text{ilum}} / \text{m}^2$	$A_{\text{ilum}} / V / \text{m}^2 \text{ L}^{-1}$	V_{ilum} / V	$q_V / \text{L min}^{-1}$	$E / \text{W m}^{-2}$
Config. plana	0,01	3×10^{-4}	0,03	0,1	$2,5 \times 10^{-4}$	20
Config. cilíndrica	0,01	2×10^{-4}	0,02	0,1	$2,5 \times 10^{-4}$	20

3.2. Prototipos de reactor solar.

Una vez obtenidos resultados satisfactorios en la desinfección bacteriana utilizando el sistema de laboratorio, se lleva a cabo un proceso de escalado que permite el tratamiento de mayores volúmenes de agua, del orden de 10–20 L, empleando radiación solar de acuerdo con los principios de sostenibilidad de la “química verde”, puesto que la fotosensibilización puede emplear la radiación solar como recurso energético natural e inagotable y materiales fotocatalíticos reutilizables. De esta manera se han desarrollado y optimizado dos prototipos de reactores solares que están constituidos por sus respectivos colectores de radiación, de diferente configuración, así como por una serie de elementos y componentes (bastidor, circuito de circulación de agua y depósito) que dan lugar a dos prototipos de reactores solares o fotorreactores.

Una vez seleccionada la tecnología CPC para desarrollar sistemas de desinfección mediante luz solar, se han fabricado dos prototipos diferentes de concentradores cilindro-parabólico compuestos, dentro de los proyectos europeos de investigación “SOLWATER” (contrato nº ICA4–CT–2002–10001) y “AQUACAT” (contrato nº ICA3–CT–2002–10028), destinados al desarrollo de un sistema solar de descontaminación de aguas para su implantación en zonas rurales aisladas de países en vías de desarrollo. La empresa de tecnología en energías renovables AoSol (Portugal)¹²⁹ y Ecosystem S.A. (España), han sido las encargadas del diseño y fabricación de los colectores solares.¹³⁰ Nuestro grupo de investigación ha construido dos fotorreactores solares al ensamblar, a su vez, dichos colectores en sus respectivos sistemas cerrados para el tratamiento de agua mediante oxígeno singlete. Se han desarrollado así dos prototipos de reactores con dos colectores de tipo CPC que difieren en la configuración de los soportes internos dentro de los tubos iluminados donde se dispone el material sensibilizador y, por tanto, en la geometría de la superficie reflectora de acuerdo al modelado según los principios de la óptica difusa. La sección de la superficie reflectora de las dos configuraciones de colector, denominados de aquí en adelante **concéntrico** o coaxial y **de aletas** (en inglés “*coaxial-*” y “*fin-type*”, respectivamente), tiene forma de W y de U, respectivamente, de acuerdo con que esté basada en dos involutas o en una línea cóncava (Figura 23). Los respectivos soportes internos difieren en su forma, siendo un cilindro concéntrico con el tubo de vidrio y un prisma rectangular o aleta dispuestos en el eje de cada tubo de vidrio receptor de radiación (mostrados en color gris en la Figura 23). Las aletas se disponen verticalmente, es decir, sobre el eje óptico del sistema en la parte inferior del tubo, para que la luz reflejada por el colector incida en la mayor parte de su superficie.

¹²⁹ <http://www.aosol.pt>

¹³⁰ Pereira, M., Oliveira, J. “Solar Collector of the CPC Type”, Patente WO2004090437, 2004.

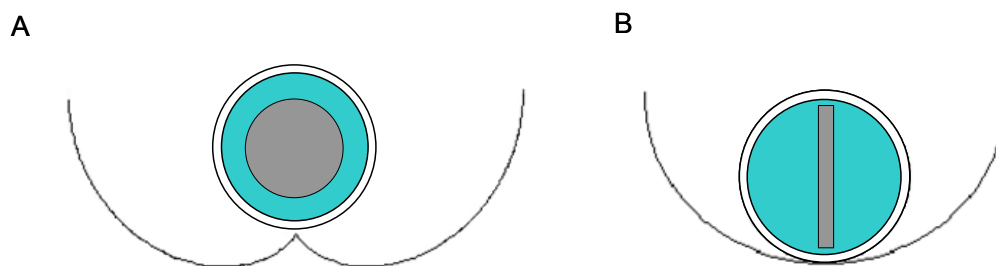


Figura 23. Sección transversal de las dos configuraciones de colector de tipo CPC utilizados en este trabajo: (A) concéntrico; (B) de aletas.

La superficie reflectora de ambos colectores es de aluminio y la transparencia en los tubos receptores a la radiación de interés de UV próximo y visible se consigue empleando vidrio con bajo contenido en hierro, como es el vidrio de borosilicato. En ambos casos y para comparación de su eficiencia, el área de superficie colectora es de 1 m^2 , lo que determina que, en función de la configuración de colector, se requiera un diferente número de tubos que están conectados entre sí a través de conexiones roscadas de polietileno. De esta manera, en el caso de la configuración coaxial, el prototipo de colector consta de 5 tubos de vidrio mientras que son 7 los tubos necesarios en la configuración de aletas. En ambas disposiciones, los tubos aceptores son idénticos (Borofloat, Schott, EE.UU.), con un espesor de pared de vidrio de 1,8 mm, una longitud de 1500 mm y un diámetro externo de 50 mm. Los soportes plásticos internos sobre los que se ha disponer el material fotosensibilizador son de polipropileno y poseen un área similar para ambos casos. En la configuración concéntrica, el soporte consiste en un tubo interno cegado en sus extremos, coaxial con el de vidrio, de 1500 mm de longitud y 32 mm de diámetro exterior, mientras que en la configuración de aletas, el soporte consistente en una pieza diametral, a modo de aleta, en toda la longitud del tubo, que posee un espesor de 6 mm y una anchura de 43 mm, algo inferior al diámetro interno del tubo de vidrio (Figuras 23 y 24).

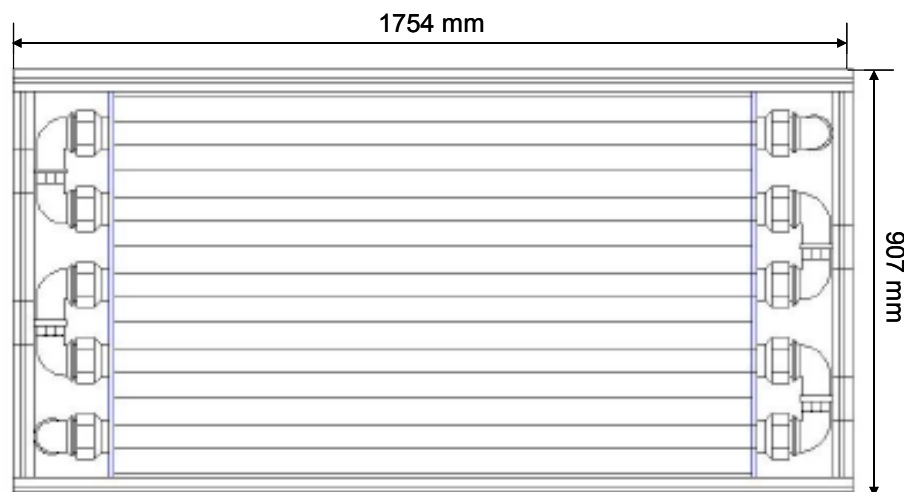


Figura 24. Vista superior del colector de configuración coaxial (dimensiones de colector de aletas: 1754 x 938 mm).

Componentes de los sistemas de fotodesinfección.

Los dos colectores solares de diferente configuración se han ensamblado en sus respectivos sistemas cerrados de circulación de agua, en los que se hace necesario introducir una serie de elementos para llevar a cabo el proceso piloto de fototratamiento del agua. De esta manera se desarrollan dos prototipos de fotorreactor solar basados en tecnología CPC.

i) Bastidor.

Los colectores de radiación, al ser estáticos, requieren una orientación e inclinación adecuadas para maximizar el aprovechamiento solar. La orientación apropiada es con su eje mayor en la dirección Este-Oeste y de cara al Sur, mientras que la inclinación con la que deben estar dispuestos los colectores debe ser coincidente con la latitud geográfica (para el caso de Madrid, 40°). La estructura de soporte, además de permitir esta disposición de los colectores solares a modo de cuna, sustenta al resto de elementos del sistema, valiéndose para ello de perfiles metálicos y de bandejas taladradas a modo de malla, para evitar acumulaciones de agua de lluvia. Teniendo todo esto en cuenta y tratando de minimizar la altura total de ambos sistemas para mejorar así su manejabilidad (unos 1400 mm), su construcción se realizó en acero inoxidable, de acuerdo con nuestras especificaciones, por los Talleres de Asistencia a la Investigación de la UCM. Los perfiles sobre los que se asientan estos bastidores están provistos de unas patas niveladoras roscadas que permiten salvar la posible inclinación del suelo (Figura 25).

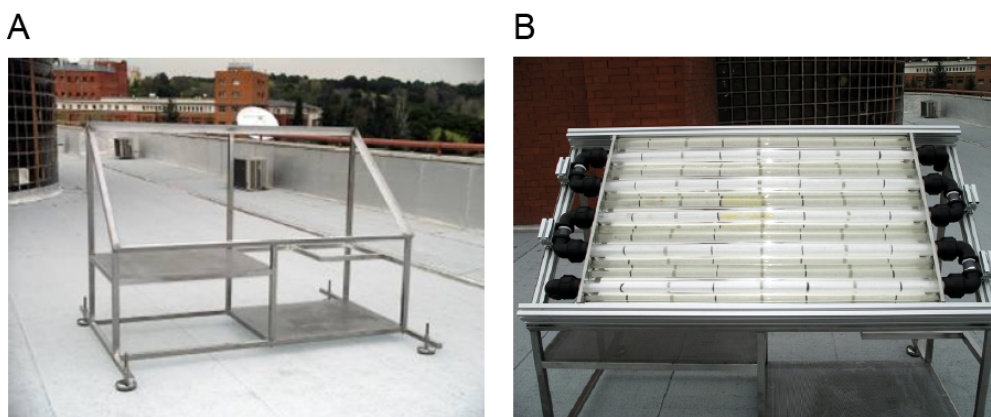


Figura 25. Imágenes de: (A) bastidor metálico; (B) colector CPC dispuesto sobre el bastidor.

ii) Depósito de agua.

En las estructuras descritas, se incluye el correspondiente depósito de agua (Roca i Roca, España), con una capacidad máxima de unos 35 L. Se trata de un depósito cilíndrico de polipropileno, con fondo cónico en el que hay una salida hacia la bomba de impulsión o bien hacia el desagüe, y que, en la parte superior, presenta dos entradas opuestas diametralmente, una para el agua procedente de la circulación en el colector solar, y otra para poder recircular el agua al tanque si ello fuese necesario. Su cierre se produce gracias a una tapa atornillada en la parte más alta del depósito, dotada de junta tórica, con un orificio de venteo en la parte lateral superior para la oxigenación del sistema, y que está protegido con un filtro de $0,2\ \mu\text{m}$ de diámetro de poro para evitar la contaminación del circuito por microorganismos externos.

iii) Circuito de circulación de agua.

En cada prototipo de fotorreactor es necesario elaborar un circuito cerrado que conecte el depósito de agua con los tubos receptores de radiación dispuestos en el colector. El agua impulsada por la bomba entra en el sistema colector por la conexión del tubo situado a menor altura y sale por el extremo opuesto del tubo más elevado, cayendo hacia el depósito donde, antes de llegar al mismo, se sitúa un orificio con septum de goma para la introducción y toma de muestras de agua. Como material para los elementos que conforman el circuito (conducciones, codos, conexiones en forma de T, racores de unión, piezas reductoras de diámetro o válvulas de corte) se utiliza PVC por su bajo coste y su facilidad de ensamblaje, puesto que estos elementos pueden unirse fácilmente entre sí aplicando un pegamento específico para este material plástico. Se ha seleccionado un diámetro nominal de las conducciones de 25 mm (UNE-EN 1452). Como sistema de impulsión del agua se han seleccionado bombas centrífugas NH-10PX-H y NH-50 PX-X (Pan World, Japón), capaces de suministrar un caudal de 2 y $15\ \text{L min}^{-1}$ a la salida de los colectores solares, respectivamente (Figura 26).

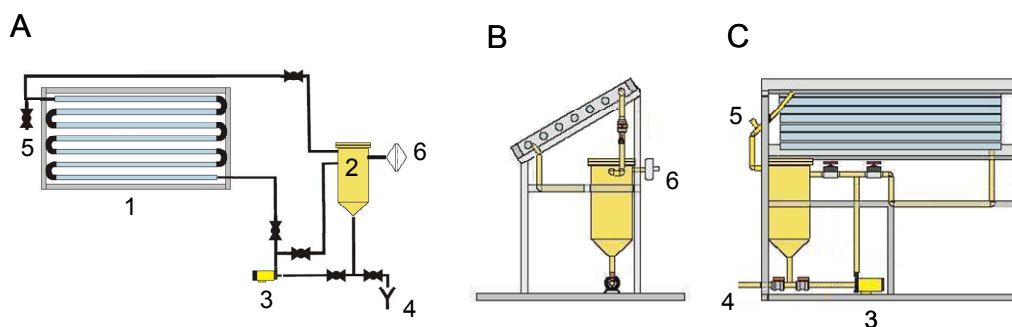


Figura 26. Esquema del prototipo con colector de aletas para la desinfección solar de aguas. (A) Esquema del circuito de circulación de agua; (B) vista lateral y (C) vista posterior del prototipo, que incluye (1) colector solar de tipo CPC; (2) depósito de agua; (3) bomba de impulsión; (4) desagüe; (5) punto de inoculación y de toma de muestras; (6) orificio de venteo.

Variables y parámetros operacionales en los reactores solares.

Tras el ensamblaje de todos los elementos descritos en los dos sistemas basados en tecnología CPC, el material fotosensibilizador se puede disponer sobre los soportes plásticos internos de los tubos en los colectores. Los materiales sensibilizadores empleados finalmente están basados en películas de pSil, dadas sus óptimas características, discutidas anteriormente en el [apartado 2](#). La forma más apropiada para la disposición de estas membranas de 1500 x 35 mm sobre los soporte de polipropileno consiste en su enrollamiento, bien sobre los soportes concéntricos, bien sobre las aletas, de manera que el agua circule por el interior de los tubos de vidrio en contacto directo con la superficie porosa e iluminada de estos materiales teñidos con fotosensibilizador. Una vez incorporado el material fotosensibilizador (producido previamente a gran escala) ambos prototipos de reactor solar pueden ser ensayados para la mejora de la calidad microbiológica del agua. Para ello se han de tener en cuenta una serie de variables relacionadas con el proceso de tratamiento de aguas, como son la temperatura del agua dentro de los sistemas y la dosis de radiación incidente, así como una serie de parámetros operacionales análogos a los descritos anteriormente para el microrreactor a escala de laboratorio, y que son susceptibles de ser modificados para optimizar el proceso de inactivación bacteriana y comparar la eficiencia de ambos fotorreactores, tomando como punto de partida los resultados obtenidos con el microrreactor.

i) Temperatura del agua en los fotorreactores solares.

Si bien el aumento de temperatura es, en principio, beneficioso para la inactivación de patógenos, los sistemas CPC, por no ser sistemas concentradores, no dan lugar a un incremento significativo de la temperatura del agua en su circuito interior. Puesto que nuestro objetivo es llevar a cabo el estudio de la inactivación de microorganismos a través de la fotosensibilización, se hace necesario un seguimiento de la temperatura del

agua en el interior de los reactores, con objeto de comparar correctamente los procesos de inactivación bacteriana llevados a cabo con ambos prototipos de reactor solar. Para la medida de la temperatura en el interior de los circuitos cerrados de agua se emplearon termopares de tipo K, fabricados por Yantra (España) de acuerdo a nuestras especificaciones. Se han instalado 2 termopares por cada montaje, uno a la entrada y otro a la salida de cada colector CPC, utilizando roscas tipo NPT para la inserción de la sonda. Los termopares se conectan a un sistema de adquisición de datos portátil (“*data logger*”) modelo 177-T4 (Testo AG, Alemania), que permite recoger datos de temperatura simultánea en sus 4 canales, por lo que es posible el seguimiento de la temperatura de ambos sistemas trabajando simultáneamente. Los datos almacenados pueden ser descargados a un PC a través de una interfaz Testo ComSoft (Figura 27).

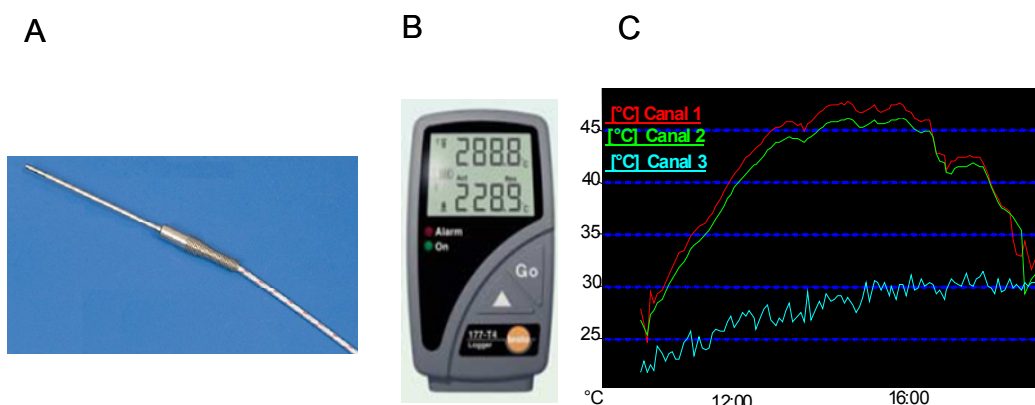


Figura 27. Elementos para el seguimiento de temperatura del agua en los prototipos solares: (A) termopar tipo K; (B) equipo de adquisición de datos; (C) gráfico de la evolución de temperatura en un sistema basado en colectores CPC durante las horas centrales de un típico día soleado en Madrid (el canal 1 corresponde a la salida y el canal 2 a la entrada de agua en el colector solar; el canal 3 representa las fluctuaciones de la temperatura ambiente).

ii) Irradiación.

Otro parámetro necesario para caracterizar los procesos de fotodesinfección del agua es la cantidad de radiación solar que reciben los materiales fotosensibilizadores. En particular, interesa determinar la radiación acumulada en el intervalo espectral de 360–700 nm, que corresponde a la región operacional del espectro solar en la que suceden los procesos de excitación del colorante en los materiales fotosensibilizadores. Como radiómetro se ha empleado un espectrofotómetro de fibra óptica Guided Wave 260 (EE.UU.), que se integra en el sistema de los fotorreactores. El terminal de la fibra óptica multimodo empleada (400 μm , InnovaQuartz, EE.UU.) está dispuesto con la misma orientación que los colectores solares y en su extremo se dispone un corrector de coseno (Ocean Optics, EE.UU.) que permite recoger la radiación incidente en un ángulo sólido de 180° , lo cual se aproxima a la cantidad de radiación que recogen los espejos de los colectores debido a su geometría optimizada.

Para la cuantificación de la cantidad de radiación incidente, se han de calibrar los datos espectrales puntuales obtenidos a través del radiómetro. Para ello se pueden emplear los datos radiométricos proporcionados por el fabricante de una fuente patrón (Ocean Optics LS-1-CAL, EE.UU.) o empleando un espectro de referencia como es el ASTM G173-03 que corresponde a unas condiciones muy similares a las de trabajo, puesto que se refiere a una superficie inclinada 37° , latitud similar a la de Madrid, en el cenit solar e incidente en un ángulo sólido de 180° sobre la superficie terrestre (Figura 28).¹³¹

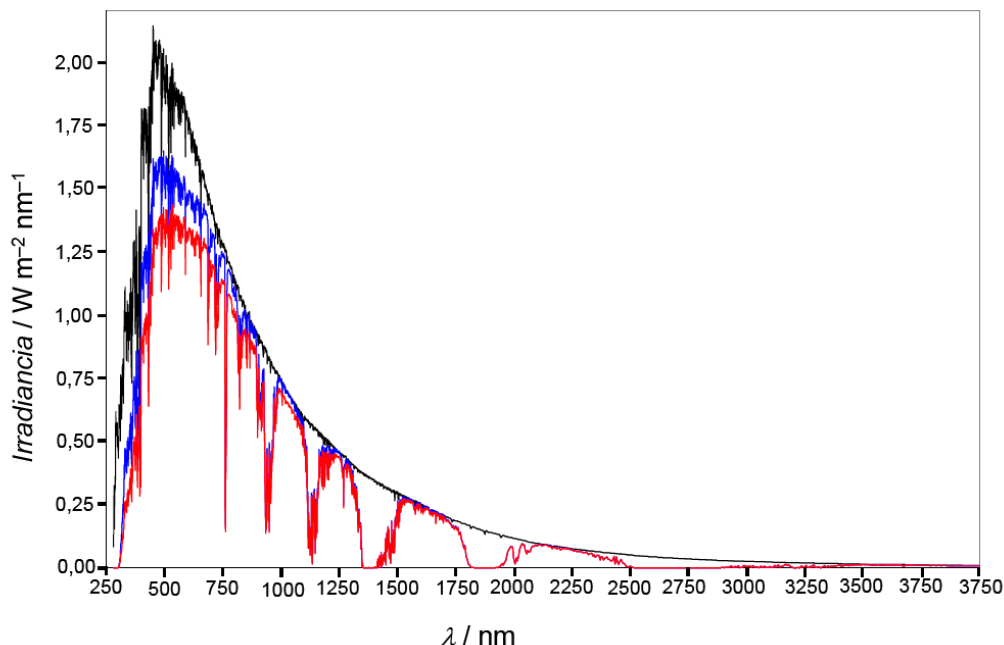


Figura 28. Espectro de irradiancia solar de referencia (ASTM G173-03) correspondiente a nivel extraterrestre (negro); correspondiente a la radiación directa incidente a nivel superficial (rojo) y contabilizando la radiación global –directa más difusa– sobre un plano inclinado 37° (azul).

De esta manera se estima la irradiancia puntual, E , que, en el intervalo de radiación de 360–700 nm y durante las horas centrales de días soleados en Madrid, toma un valor promedio aproximado de unos 400 W m^{-2} (ver Figura 29).

¹³¹ “Standard Tables for Reference Solar Spectral Irradiances: Direct Normal and Hemispherical on 37° Tilted Surface”, ASTM Standard G173-023, **2003**.

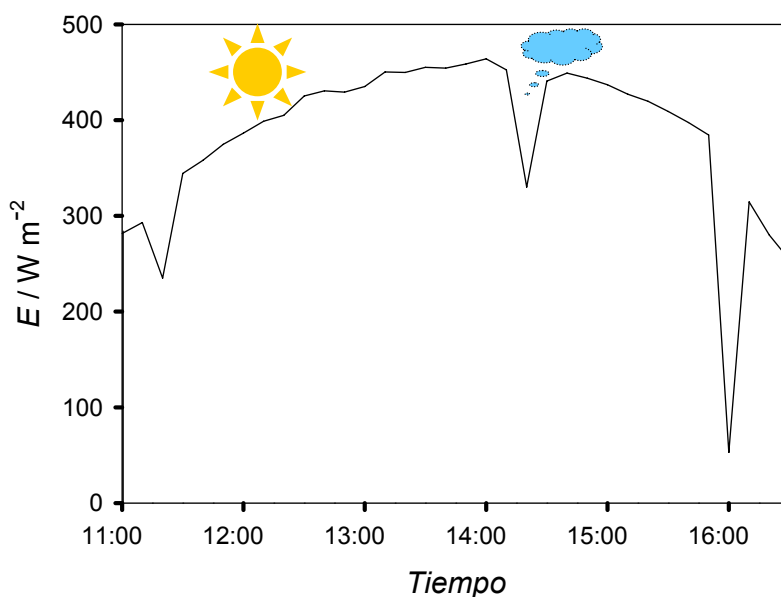


Figura 29. Evolución típica de la irradiancia (360–700 nm) sobre los colectores solares de tipo CPC, inclinados 40° en días soleados en la latitud geográfica correspondiente a Madrid.

A partir de la irradiancia puntual y por integración durante los periodos de tratamiento de agua, se puede determinar la cantidad de radiación acumulada que incide sobre el material fotosensibilizador,¹³² expresada como fluencia (H_0 , J m^{-2}) o como dosis de radiación acumulada (Q , $\text{J m}^{-2} \text{L}^{-1}$) en el intervalo operacional de radiación.¹³³ Los datos así obtenidos han podido ser contrastados a través de la instalación temporal de un piranómetro Kipp & Zonen modelo CM11 (Países Bajos), cedido amablemente por la Agencia Estatal de Meteorología (España).

En las Figuras 30 y 31 se puede observar el fotorreactor basado en el colector CPC con configuración concéntrica, incluyendo todos los elementos, componentes y equipos de medida descritos más arriba.

¹³² Ruiz, E., Soler, A., Robledo, L. “Assessment of Muneer’s Luminous Efficacy Models in Madrid and a Proposal for New Models Based on His Approach”, *J. Solar Energy Eng.*, **2001**, 123, 220–224.

¹³³ Braslavsky, S. E. “Glossary of Terms Used in Photochemistry, 3rd Edition (IUPAC Recommendations 2006)”, *Pure Appl. Chem.*, **2007**, 79, 293–465.

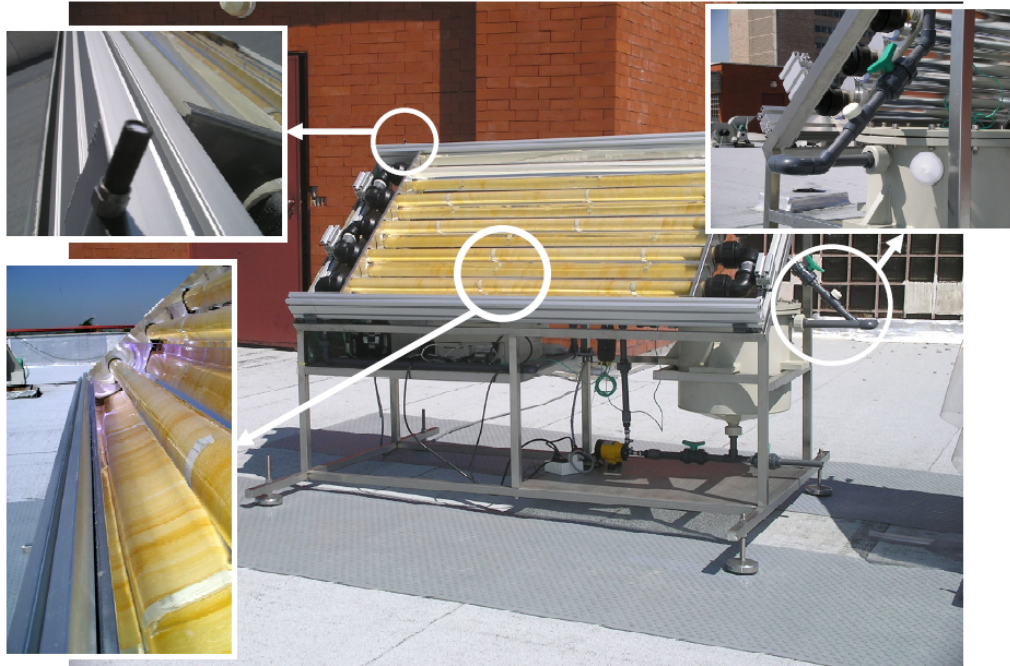


Figura 30. Vista anterior del fotorreactor de tipo concéntrico. En el detalle superior izquierdo se observa el corrector de coseno situado en el extremo de la fibra óptica conectada al radiómetro. El detalle inferior izquierdo muestra la disposición del material fotosensibilizador en el interior de los tubos receptores de radiación del colector CPC. En el detalle a la derecha se puede apreciar el punto de introducción y toma de muestras a la salida del colector, así como el venteo del sistema dispuesto en el tanque de almacenamiento de agua.



Figura 31. Vista posterior del fotorreactor de tipo concéntrico. En el detalle se muestra la situación de un termopar dispuesto a la salida del colector CPC.

iii) Parámetros de optimización del proceso de desinfección de agua.

La temperatura así como la irradiación solar y su aprovechamiento por parte de los sistemas solares son parámetros que influyen de manera directa sobre el proceso de mejora de la calidad microbiológica del agua, pero que no son optimizables, al tratarse de variables ambientales sobre las que no es posible influir. Sin embargo, la efectividad de desinfección de los prototipos de reactor solar sí puede ser optimizada por una serie de parámetros operacionales modificables, que básicamente son los mismos que los descritos en el [subapartado 3. 1](#) para el caso del microrreactor a escala de laboratorio: volumen de agua a tratar (V), área iluminada de fotosensibilizador (A_{ilum}), relación entre dicha área y dicho volumen (A_{ilum}/V), volumen de agua iluminada bajo la influencia directa del material fotosensibilizador respecto al volumen total (V_{ilum}/V) y el caudal de agua (q_v), directamente relacionado con el régimen de circulación del agua a tratar así como con su tiempo de residencia dentro el circuito.¹³⁴ A fin de poder comparar y optimizar ambos prototipos, hay que tener en cuenta una serie de consideraciones. En primer lugar, los volúmenes seleccionados se encuentran en el intervalo entre 10–20 L, asumiendo un consumo de 2–3 L diarios de agua potable por persona, para una familia de 5 miembros, puesto que nos permiten llevar a cabo ensayos en condiciones piloto con costes razonables de operación y sin necesidad de almacenamiento de cantidades exageradas de agua. El área total (A) de cada colector es de 1 m², pero mientras que el área del soporte plástico en el interior de cada tubo es similar para ambos prototipos, el número total de tubos no lo es, con la consiguiente diferencia en el área de colector solar por tubo. Por otro lado, el volumen de agua contenida en el interior de cada tubo difiere según la configuración del sistema (~ 1 L y ~ 2 L para la configuración coaxial y de aletas, respectivamente). Todo esto conduce a que el volumen de agua que permite llenar todos los tubos del sistema de aletas sea superior al necesario en el sistema concéntrico y a la imposibilidad de que las relaciones (A_{ilum}/V) y (V_{ilum}/V) sean similares en ambos sistemas de desinfección de manera simultánea. Por otra parte, en función del caudal del agua (q_v) se puede modificar su régimen de circulación teniendo en cuenta que, dada la diferente configuración que presentan ambos sistemas de tratamiento, un mismo caudal supone diferencias reológicas entre ellos en función del número adimensional de Reynolds, Re ,^{135,136} que viene dado por:

$$\text{Re} = \frac{v D_H \rho}{\mu} \quad (I)$$

¹³⁴ Malato, S., Blanco, J., Vidal, A., Richter, C. “*Photocatalysis with Solar Energy at a Pilot-Plant Scale: an Overview*”, Appl. Catal. B: Environ., **2002**, 37, 1–15.

¹³⁵ Costa, E. “*Ingeniería Química: Flujo de Fluidos*”. Vol. 3, **1985**, Ed. Alhambra, Madrid.

¹³⁶ Holman, J. P. “*Heat Transfer*”, 8th ed., **1997**, McGraw-Hill, New York.

donde v es la velocidad lineal media del agua (m s^{-1}), D_H es el diámetro hidráulico, definido como 4 veces la sección libre dividido entre el perímetro de mojado (m), ρ es la densidad del fluido (kg m^{-3}), y μ es la viscosidad dinámica del fluido ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$).

Una vez considerados y estudiados los aspectos anteriores, los parámetros de trabajo seleccionados para llevar a cabo los procesos de tratamiento de agua, de modo eficiente en ambos fotorreactores solares, son los mostrados en la [Tabla 8](#).

Tabla 8. Variables y parámetros operacionales (volumen de agua a tratar por experimento, área de fotosensibilizador iluminado, relación entre área iluminada y volumen, relación entre el volumen de agua iluminada respecto al volumen total, caudal y número de Reynolds, temperatura del agua e irradiancia) empleando fotosensibilizadores inmovilizados en película de pSil en los fotorreactores solares con configuración concéntrica y de aletas, respectivamente.

<i>Prototipo</i>	V / L	A_{ilum} / m^2	A_{ilum}/V / $\text{m}^2 \text{L}^{-1}$	V_{ilum}/V	q_v / L min^{-1}	Re	T / $^{\circ}\text{C}$	E / W m^{-2}
Concéntrico	10,0	0,57	0,06	0,52	~ 2	~ 4000	< 50	400
Aletas	17,5	0,65	0,04	0,57	~ 2	~ 2000	< 50	400

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS.

En el anterior apartado de [Introducción](#) de la presente Tesis doctoral se pone de manifiesto la dramática situación actual de acceso al agua para consumo humano en una gran parte del mundo menos desarrollado. En este apartado junto al correspondiente de [Desarrollo Experimental](#), se discuten las diferentes alternativas viables para la potabilización de agua en el punto de uso y se propone una solución mejorada basada en el desarrollo de un sistema novedoso, robusto y sostenible que utiliza la radiación solar como recurso natural inagotable y un proceso de fotodesinfección catalítica (fotosensibilización) mediante oxígeno singlete producido en fase heterogénea por colorantes inmovilizados sobre polímeros que no requiere la adición de productos químicos. Este sistema de fototratamiento de agua puede permitir el suministro básico y continuo de agua a unidades familiares situadas en áreas rurales aisladas en países en vías de desarrollo.

A continuación se incluyen, en un formato homogéneo, los artículos científicos publicados sobre el trabajo llevado a cabo para el diseño, escalado e implementación de materiales fotosensibilizadores de oxígeno singlete adaptables a reactores solares desarrollados empleando tecnología CPC para la mejora de la calidad microbiológica del agua, de acuerdo con los objetivos generales y específicos del presente trabajo de Tesis doctoral. La información que se presenta en las páginas siguientes corresponde a una serie de 5 artículos publicados en destacadas revistas del área de química, ingeniería y medioambiente, como son *Solar Energy* (índice de impacto: 1,431, primer cuartil),¹³⁷ *Applied Catalysis B: Environmental* (índice de impacto: 3,942, primer cuartil),¹³⁸ *Environmental Science & Technology* (índice de impacto: 4,458, primer cuartil),¹³⁹ y *Photochemical & Photobiological Sciences* (índice de impacto: 2,144, segundo cuartil),^{140,141} Los artículos incluyen correcciones de erratas, así como el material suplementario correspondiente, en su caso.

En este apartado de [Publicaciones](#), en líneas muy generales, se procede a la selección de fotocatalizadores adecuados capaces de generar, de una manera eficiente, oxígeno molecular singlete $^1\text{O}_2$ como especie reactiva del O_2 , de contrastado poder bactericida. La generación de $^1\text{O}_2$ a partir de oxígeno molecular disuelto en el agua, se lleva a cabo

¹³⁷ Jiménez-Hernández, M. E., Manjón, F., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. “*Solar Water Disinfection by Singlet Oxygen Photogenerated with Polymer-Supported Ru(II) Sensitizers*”, *Solar Energy*, **2006**, 80 (10), 1382–1387.

¹³⁸ Villén, L., Manjón, F., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. “*Solar Water Disinfection by Photocatalytic Singlet Oxygen Production in Heterogeneous Medium*”, *Appl. Catal. B: Environ.*, **2006**, 69, 1–9.

¹³⁹ Manjón, F., Villén, L., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. “*On the Factors Influencing the Performance of Solar Reactors for Water Disinfection with Photosensitized Singlet Oxygen*”, *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, 42, 301–307.

¹⁴⁰ Manjón, F., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. “*Water Disinfection with Ru(II) Photosensitisers Supported on Ionic Porous Silicones*”, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2009**, 8, 926–932.

¹⁴¹ Manjón, F., Santana-Magaña, M., García-Fresnadillo, D., Orellana, G. “*Singlet Oxygen Sensitizing Materials Based on Porous Silicone: Photochemical Characterization, Effect of Dye Reloading and Application to Water Disinfection with Solar Reactors*”, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2010** (DOI: 10.1039/c0pp00026d).

fotocatalíticamente a través de un proceso denominado fotosensibilización, gracias al aprovechamiento de la radiación UV-Vis por parte de colorantes denominados fotosensibilizadores. El proceso de tratamiento de agua de consumo requiere un proceso heterogéneo para producir $^1\text{O}_2$, de manera que los fotosensibilizadores no se encuentren presentes en el agua. Para ello se eligen una serie de compuestos de coordinación inocuos basados en **complejos de rutenio(II)**, que son inmovilizados sobre diferentes soportes poliméricos, de entre los que se selecciona finalmente, siguiendo los criterios expuestos en la [Introducción](#), un novedoso material de silicona porosa, **pSil** en forma de película, por su biocompatibilidad, alta permeabilidad al oxígeno, facilidad de unión de sensibilizador y estabilidad térmica y fotoquímica, así como largo tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ fotogenerado. Los complejos de Ru(II) inmovilizados sobre pSil dan lugar a una serie de materiales fotosensibilizadores que se emplean en la desinfección de dos tipos de bacterias indicadoras de contaminación de aguas naturales: *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Los estudios de inactivación de dichos microorganismos usando diferentes materiales fotosensibilizadores son el objeto de las diferentes publicaciones presentadas. Las concentraciones iniciales de bacterias estudiadas, expresadas como unidades formadoras de colonia por unidad de volumen de agua (UFC mL^{-1}), se encuentran en el intervalo de 10^2 – 10^4 UFC mL^{-1} que, por lo general, corresponden con concentraciones moderadas o altas presentes en aguas naturales de las zonas objetivo. Los materiales fotosensibilizadores seleccionados se han ensayado a escala de laboratorio para la inactivación bacteriana utilizando un microrreactor de desinfección en circuito cerrado descrito en la parte de [Desarrollo Experimental](#), basado en un simulador solar como fuente de radiación. En función de los resultados obtenidos se procede a un proceso de escalado del material fotosensibilizador para el desarrollo de dos prototipos diferentes de reactores solares basados en tecnología **CPC** (colectores cilindro-parabólico compuestos), muy empleados en los últimos años en fotocatálisis solar gracias a su óptimo aprovechamiento fotónico y a su bajo coste relativo. Los dos fotorreactores solares, de 1 m^2 de superficie especular, denominados de tipo **concéntrico** y de **aletas**, difieren en la geometría de los espejos, el número de tubos iluminados y en la disposición interna del material fotosensibilizador dentro de los tubos. Los prototipos de reactores solares permiten, una vez optimizados, el tratamiento de unos 10–20 L de agua tras unas 6 h de irradiación en días soleados en Madrid. El prototipo de aletas se muestra como el sistema más eficiente debido a factores relacionados con su diseño óptico, que mejoran las cinéticas de desinfección.

La caracterización de los materiales fotosensibilizadores basados en complejos de Ru(II) se lleva a cabo desde el punto de vista fotoquímico y fotofísico tras su preparación, y a medida que son utilizados en los procesos de desinfección solar. Aunque se trata de materiales robustos, es inevitable que sufran procesos indeseables de fotodegradación, si bien aquellos basados en pSil, tras unos 3 meses de uso continuado, siguen mostrando la misma eficiencia en la inactivación bacteriana que recién preparados. Por ello, se analizan posibles alternativas que permitan aumentar la

durabilidad de los materiales fotosensibilizadores. En ese sentido se ha llevado a cabo la **funcionalización** de los soportes pSil para dar lugar a materiales porosos de silicona modificada superficialmente con grupos iónicos sobre los que se anclan los complejos de Ru(II) de carácter iónico complementario. Los resultados obtenidos a escala de laboratorio con pSil iónico son prometedores, aunque infructuosos, dada la limitada estabilidad de estos materiales, que conduce al lavado progresivo de fotosensibilizador inmovilizado. Asimismo, se contempla la posibilidad de **recarga** de los materiales fotosensibilizadores usados con nuevos aportes de sensibilizador. Esto es posible gracias a la gran robustez del pSil como material de soporte. Con ello se consigue que, bajo condiciones operacionales adecuadas, el material fotosensibilizador recargado sea todavía más eficiente que el preparado inicialmente, gracias a la disposición más superficial del sensibilizador en el polímero de silicona porosa. Este hecho permite un mayor ciclo de vida del soporte polimérico, al poderlo reutilizar para preparar, de manera muy sencilla, nuevo material fotosensibilizador.

En la posterior parte de [Discusión Integradora](#) se relacionan los resultados de inactivación bacteriana obtenidos con los materiales basados en complejos de Ru(II) con otros resultados resultantes de emplear el **fullereno C₆₀** y un compuesto derivado del mismo, dadas sus buenas propiedades para la fotosensibilización, lo que se incluirá en los correspondientes manuscritos en fase de preparación. Nuevamente, los fotosensibilizadores de la familia del fullereno se inmovilizan sobre pSil o sobre pSil funcionalizado aniómicamente, confirmando la generación de oxígeno singlete por parte de estos materiales, si bien los resultados de inactivación bacteriana obtenidos a pequeña escala no son satisfactorios debido a la posible baja interacción entre los materiales fotosensibilizadores preparados y los microorganismos a inactivar. No obstante, las posibilidades de estos materiales fotogeneradores de oxígeno singlete basados en C₆₀ son muy prometedoras para su aplicación en desinfección, teniendo en cuenta, entre otras muchas características, su capacidad de fotogeneración de $^1\text{O}_2$. En este sentido, también se evalúa la (foto)citotoxicidad de suspensiones acuosas estables de C₆₀ generadas a partir del acondicionamiento del material preparado por inmovilización de C₆₀ sobre pSil. El C₆₀ es insoluble en agua, pero mediante ciertos procesos físicos es posible obtener fullereno en forma de agregados de escala nanométrica, **nC₆₀**. Estos nanocristales, a concentraciones considerablemente bajas (nM), presentan una gran citotoxicidad debido a diversos fenómenos, entre los que se incluye la fototoxicidad por generación de $^1\text{O}_2$. De esta manera, es posible comparar la fototoxicidad de las suspensiones de nC₆₀ en un proceso de inactivación bacteriana microheterogéneo con respecto a disoluciones homogéneas de complejos de Ru(II).

(A) Solar Energy, **2006**, *80* (10), 1382–1387.¹³⁷

SOLAR WATER DISINFECTION BY SINGLET OXYGEN PHOTOGENERATED WITH POLYMER-SUPPORTED Ru(II) SENSITIZERS.

M. Emilia Jiménez-Hernández, Francisco Manjón, David García-Fresnadillo and Guillermo Orellana*

Laboratory of Applied Photochemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain.

ABSTRACT.

Using *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* as model microorganisms, water disinfection has been demonstrated with singlet molecular oxygen (a reactive oxygen species) photogenerated by polymer-supported Ru(II) sensitizers and solar light. Both laboratory and sunlight tests were performed. The Ru(II) polypyridyl complex and its insoluble support have been optimized to provide maximum efficiency of singlet oxygen production and contact with the microorganism.

1. INTRODUCTION.

Singlet molecular oxygen (abbreviated $^1\text{O}_2$, [Figure 32](#)) is the lowest electronic excited state of molecular oxygen. It can be readily generated by energy transfer from electronically excited dyes to ground state dioxygen, following a photochemical process called *sensitization* ([Figure 33](#)) in which the excited state of the sensitizer is quenched by molecular oxygen yielding singlet oxygen.

* Corresponding author: orellana@quim.ucm.es

Mailing address: Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain.

Phone: 34–91–3944220. Fax: 34–91–3944103.

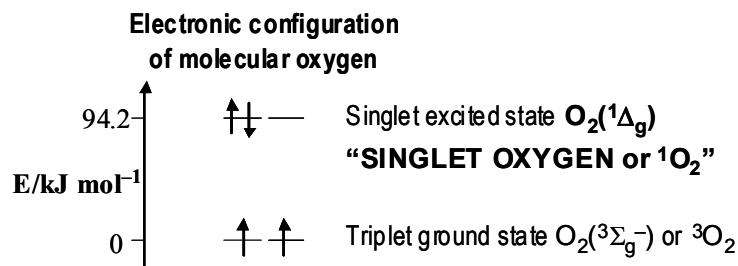


Figure 32. Energy diagram and electronic configuration of ground and excited molecular oxygen.

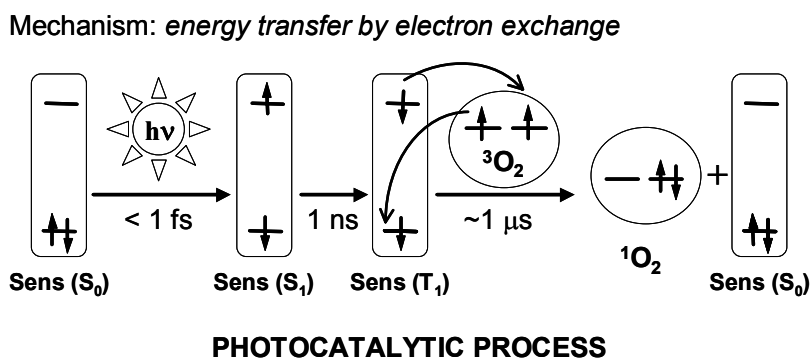


Figure 33. Scheme of the singlet oxygen generation by photosensitization with a dye (Sens).

Among singlet oxygen photosensitizers (Sens), ruthenium(II) complexes with polyazaheterocyclic ligands are bound to occupy a prominent place. These coordination compounds display a number of advantages compared to other reference $^1\text{O}_2$ sensitizers such as rose bengal, phenalenone or methylene blue. Ru(II) coordination compounds show strong absorption in the visible, quantitative intersystem crossing quantum yield from the singlet excited state (S_1) to the triplet excited state (T_1), a long excited state lifetime (τ_T) allowing efficient quenching (close to the diffusion control limit) by molecular oxygen, good thermal and (photo)chemical stabilities, high $^1\text{O}_2$ production quantum yields ($\Phi_A = 1$ in methanol for some of them) and they can be immobilized on different polymer supports by a judicious selection of the substituents in the coordinated ligands.⁷⁵

Singlet oxygen is a short-lived highly reactive species that is known to inactivate air- or water-carried bacteria efficiently, since one or more $^1\text{O}_2$ -sensitive groups can be found in proteins, lipids and nucleic acids.^{78,142} Compared to other disinfection techniques used in urban areas at large scale (e.g. chlorination, ozonization or UV-light irradiation), that require large treatment plants with high costs, toxic reagents and

¹⁴² Kruk, I., “*Environmental Toxicology and Chemistry of Oxygen Species*” in The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2, Part 1, Hutzinger, O. (ed.), 1998, Springer, Berlin-Heidelberg, pp. 89–138.

trained personnel, we propose singlet oxygen-based technology for water disinfection in isolated rural areas where operational expenses must be necessarily low, chemicals are not available and qualification of operators is low. Therefore, among novel and ecologically-friendly water disinfection techniques, the combination of sunlight and a $^1\text{O}_2$ photosensitizer might be a promising option for areas with insufficient infrastructure but high yearly average solar irradiation.^{143,144,145} So far only dissolved organic $^1\text{O}_2$ photosensitizers such as rose bengal, methylene blue and cationic porphyrins have been used to that end; however, although efficient towards fecal coliforms and helminth eggs, this procedure requires removal of the dye after its photodynamic action.

Based on the quantum yield of $^1\text{O}_2$ generation upon illumination with blue light (0.5 in water, 1.0 in methanol),⁷³ we have selected the sensitizer complexes tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II), RDP^{2+} , tris(1,10-phenanthrolyl-4,7-bis(benzenesulfonate)ruthenate(II), RSD^{4-} and tris(4,4'-dinonyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II), RBN^{2+} , to carry out a laboratory-to-pilot-installation study on water disinfection by polymer-supported Ru(II) complexes (Fig. 34).

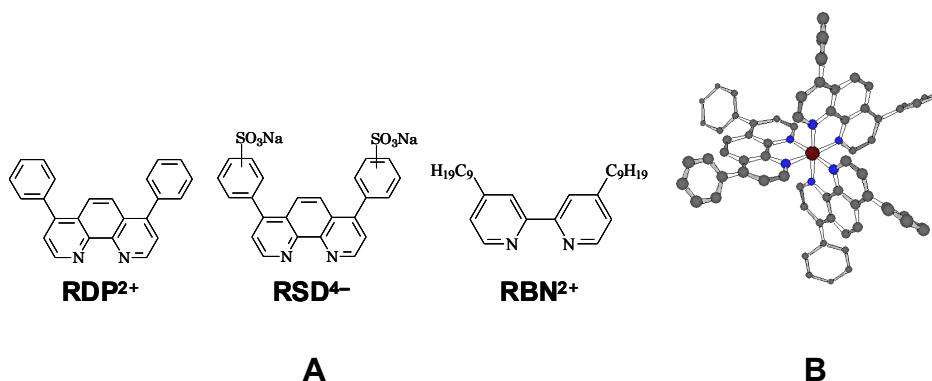


Figure 34. (A) Structure of the polyazaheterocyclic ligands of the RDP^{2+} , RSD^{4-} and RBN^{2+} singlet oxygen sensitizers used in this work. (B) Computer-generated structure of RDP^{2+} photosensitizer (hydrogen atoms have been omitted in the drawing for the sake of clarity).

In order to remove readily the sensitizer after its photodynamic action (microorganism inactivation), we attached these metal complexes to suitable materials. Suitable polymers must include the following characteristics: (i) compatibility with the photosensitizer, allowing easy and reproducible immobilization procedures and avoiding leaching out to water, (ii) good rheological features for minimum pressure

¹⁴³ Cooper, A. T., Goswami, D. Y. "Evaluation of Methylene Blue and Rose Bengal for Dye Sensitized Solar Water Treatment", *J. Solar Energy Eng.*, **2002**, 124, 305–310.

¹⁴⁴ Alouini, Z., Jemli, M. "Destruction of Helminth Eggs by Photosensitized Porphyrin", *J. Environ. Monitoring*, **2001**, 3, 548–551.

¹⁴⁵ Jemli, M., Alouini, Z., Sabbahi, S., Gueddari, M. "Destruction of Fecal Bacteria in Wastewater by Three Photosensitizers", *J. Environ. Monitoring*, **2002**, 4, 511–516.

drops in the photocatalytic reactor, (iii) mechanical strength and stability towards sunlight, (iv) good oxygen permeability for efficient $^1\text{O}_2$ production with minimum $^1\text{O}_2$ quenching, (v) high biocompatibility to maximize the interaction between the polymer and the microorganisms, and (vi) commercial availability and low cost. Different materials have been tested, namely porous silicone (pSil) and cationic derivatives of nylon (Ny^+), poly(vinylidene difluoride) (PVDF^+) and cellulose (Cel^+).

2. *EXPERIMENTAL.*

2.1. **Materials.**

RDP^{2+} , RSD^{4+} and RBN^{2+} preparation has been described elsewhere.⁷³ Porous silicone hollow cylinders of (4 mm o.d.) were a gift of Ashby Scientific (UK) and cationic Nylon and poly(vinylidene difluoride) membranes were from Millipore (MA) and cellulose (Cel^+) membranes from Schleicher&Schuell (Germany). Sensitizers were immobilized in the polymers from concentrated hydroalcoholic or aqueous solutions (typically in the mM range) until saturation of the support was achieved. RDP^{2+} and RBN^{2+} were incorporated in the silicone via adsorption from boiling solutions, and RSD^{4+} was immobilized in the cationic supports by electrostatic interaction at room temperature. Uptake of the sensitizer by the polymer materials was determined from UV–Vis absorption measurements of the initial solution and the supernatant after several hour contact.

2.2. **Spectroscopy.**

Absorption spectra were recorded with a Varian Cary 3 Bio UV–Vis spectrophotometer. Reflectance measurements were performed with a Guided-Wave Model 260 fiber-optic spectrofluorometer. Emission lifetimes of the sensitizers were measured with an Edinburgh Instruments FL–900 time-correlated single-photon counting (TC–SPC) spectrometer. Excitation of the samples was carried out with an IBH NanoLED 405–nm pulsed laser diode. The emission profiles were fitted to a sum of typically 2–4 exponential functions and preexponentially weighted mean lifetimes (τ_M) were calculated from the experimental data. Excited state lifetimes were determined for the immobilized sensitizers immersed in Ar-saturated, air-equilibrated and O_2 -purged water. $^1\text{O}_2$ lifetime was determined by detection of its characteristic phosphorescence at 1270 nm with an Edinburgh Instruments LP–900 laser flash photolysis system equipped with a Nd–YAG laser (Minilite II, Continuum, CA) for excitation at 532 nm and a EI–P fast Ge photodiode for the near-infrared detection.

2.3. **Singlet oxygen microreactor system.**

We have designed and built a microreactor for small scale disinfection assays. The different components of the experimental device are shown in [Figure 35](#).

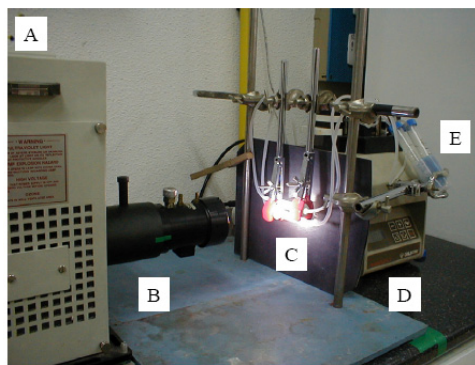


Figure 35. Experimental device for laboratory $^1\text{O}_2$ disinfection assays (preliminary tests) composed by a solar simulator (150 W Xe lamp, A), IR and UVB cut-off filters (B), two glass reactors (C), peristaltic pump (D) and reservoirs (E).

The home-made microreactor system is composed of twin glass reactors for simultaneous irradiation of sample and reference bacteria suspensions (Figure 35C). Bacteria suspensions were re-circulated through reactors which were connected to the corresponding reservoir by means of silicone tubes (i.d. = 2 mm). Radiation provided by the Xe lamp (150 W) after passing through the filters system (water column and cut-off at 373 nm in order to remove IR and UV radiation that could damage bacteria via non-photocatalytic pathways) has been determined to be 20 W m^{-2} . A flow of 15 mL h^{-1} and a water sample volume of 9.5 mL were selected for preliminary disinfection assays.

2.4. Microorganisms.

In order to test the effect of singlet oxygen disinfection on the Gram type, two different bacteria commonly found in water have been selected, namely *Escherichia coli* (CECT 4624, gram-negative) (CECT stands for “Colección Española de Cultivos Tipo”, <http://www.uv.es/cect>) and *Enterococcus faecalis* (CECT 5143, gram-positive). We used the stationary growth phase (typically $1-7 \times 10^9 \text{ CFU mL}^{-1}$) for the disinfection testing. Bacteria suspension in water was freshly prepared by dilution up to the final concentration.

2.5. Method for evaluating the disinfection efficiency.

Since our water sample is a laboratory one, *i.e.* it contains only *E. coli* or *E. faecalis* suspended in MilliQ purified water (Millipore, MA), colony counting on non-selective agar was selected as the routine technique for laboratory experiments.

3. **RESULTS.**

Experimental data on the characterization of the singlet oxygen photosensitizers immobilized on different polymer supports and their singlet oxygen photogeneration (Figure 36) have been collected to find the optimum material. The investigated couples were RSD/Cel⁺, RSD/Ny⁺, RSD/ PVDF⁺, RBN/pSil-i and RDP/pSil-i. Sensitizer loading was determined to be in the order of 1–30 mg g⁻¹ of polymer support in all cases. Homogeneity of the immobilization procedure was tested by performing 2D reflectance profiles of the dyed materials ($\log R_{\lambda 0}/R_{\lambda} = 1.5$ to 3). The excited state lifetimes of the supported sensitizers equilibrated with O₂-free water (τ_{M0}) were measured (0.3 μs in the case of RBN²⁺ sensitizer, and ranging from 2.4 to 4.2 μs for RSD⁴⁺ and RDP²⁺ sensitizers, depending on the supporting polymer), and their corresponding quenching rate constants by O₂ (k_q) have been calculated to be close to 10⁸ M⁻¹ s⁻¹ for the Ru(II) sensitizers immobilized on PVDF⁺, Cel⁺, and Ny⁺ supports, and an order of magnitude higher for pSil-supported photocatalysts. From these data, the probability of quenching of the excited Ru(II) complexes by oxygen in the dyed supports equilibrated with air-saturated water were determined (0.05 for RSD/PVDF⁺, 0.27 for RSD/Cel⁺, 0.36 for RBN/pSil-i, 0.51 for RSD/Ny⁺ and 0.81 for RDP/pSil-i, respectively). Singlet oxygen lifetimes as high as 36 μs in silicone have been measured in our systems (3–4 μs in water and when singlet oxygen is photogenerated by sensitizers immobilized in the other polymers in water). Therefore, it seems that the RDP/pSil-i pair yields the best combination of O₂ quenching efficiency and singlet oxygen lifetime.

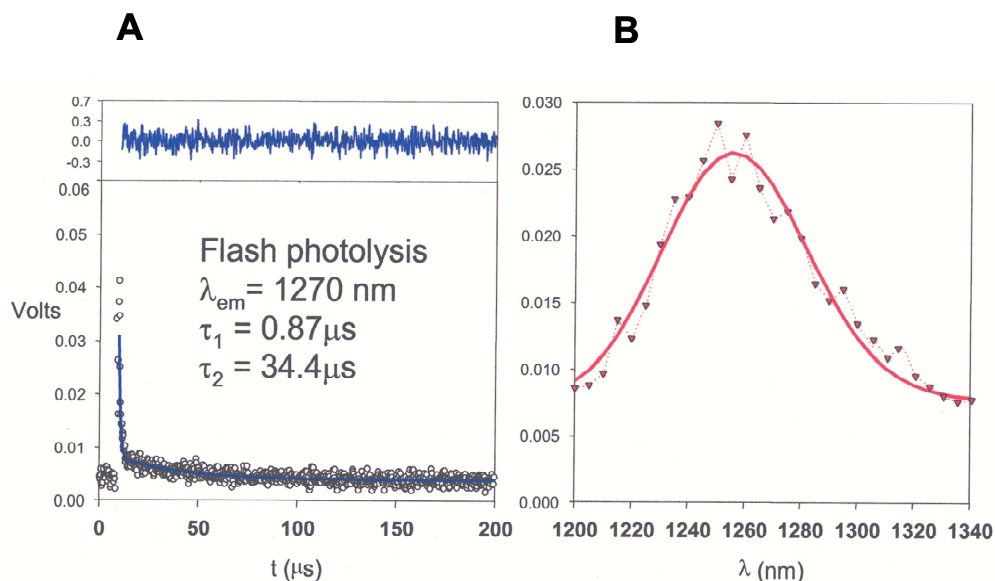


Figure 36. (A) $^1\text{O}_2$ emission kinetics at 1270 nm after laser-flash excitation. Singlet oxygen has been generated by photosensitization from a Ru(II) sensitizer immobilized on a polymer support in water. The solid line through the experimental points represents the best fit to the biexponential function $I(t) = B_1 \exp(-k_1 t) + B_2 \exp(-k_2 t)$, where the lifetimes of the excited sensitizer and of singlet oxygen are $\tau_1 = 1/k_1$ and $\tau_2 = 1/k_2$, respectively, and B_1 and B_2 are the corresponding preexponential factors. B_2 is proportional to the amount of photogenerated $^1\text{O}_2$. A singlet oxygen lifetime of 34.4 μs was determined in this photosensitizing material. (B) Emission spectrum in the near infrared region obtained by time-resolved emission spectroscopy, showing that the emission decay trace actually corresponds to $^1\text{O}_2$.

Singlet oxygen photogeneration in heterogeneous phase was evaluated using both chemical scavengers (imidazole/*N,N*-dimethyl-*p*-nitrosoaniline system, data not shown) and the characteristic $^1\text{O}_2$ NIR emission via time-resolved laser techniques (Figure 36).

For laboratory-scale water disinfection assays we have assembled a homemade microreactor with a solar simulator source (Figure 35). Among those bacteria commonly found in water, *Escherichia coli* (gram-negative) and *Enterococcus faecalis* (gram-positive) have been selected as test microorganisms. Noticeable disinfection was observed with the RDP²⁺/silicone system, for which a rate of cell inactivation by $^1\text{O}_2$ up to $0.7 \times 10^5 \text{ CFU h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ has been measured with *E. coli* (Figure 37) and $1.1 \times 10^5 \text{ CFU h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ with *E. faecalis*. Figure 37 shows a typical water disinfection experiment carried out with our laboratory experimental setup using RDP/pSil-i material and a water sample containing *E. coli* bacteria (10^3 CFU mL^{-1}). Error bars were statistically determined from data of 32 replicates, at a confidence level of 95%. Less than 10% of the initial bacteria survive after photocatalytic treatment with an accumulated radiation of 0.60 MJ m^{-2} , while bacterial disinfection was negligible in blank experiments with pSil but without photosensitizer (reference) or without sensitizing material neither pSil (control) under irradiation or dark conditions, respectively. RDP²⁺ strongly binds to this

support and photosensitizer leaching has not been detected after performing the experiments. On the contrary, the RSD^{4-} /cationic polymer systems produce no disinfection at all and significant photosensitizer leaching has been observed, specially in the case of Ny^+ and Cel^+ polymers.

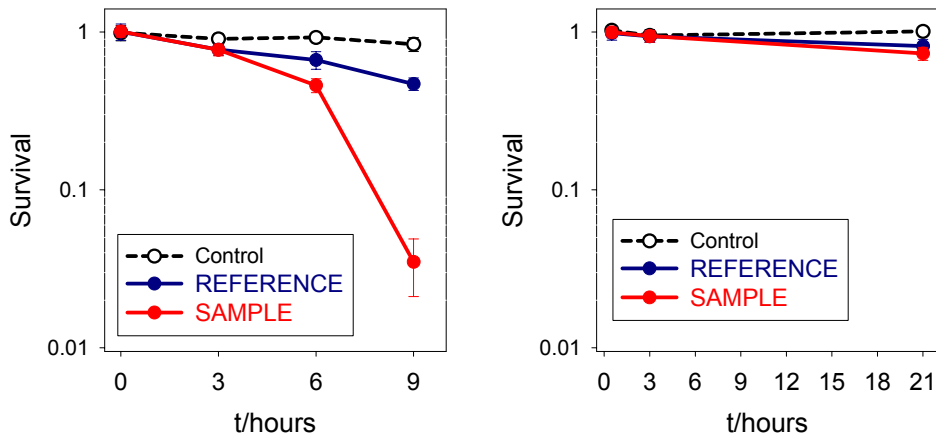


Figure 37. Typical disinfection test for *E. coli* 10^3 CFU mL^{-1} using RDP/pSil-i (sample) and porous silicone without fotosensitizer (reference). The graph on the left corresponds to irradiation assays and the graph on the right to control experiments keeping reactors in the dark.

4. DISCUSSION.

The luminescence lifetimes of the sensitizer (τ_{M0}) are dependent on the dye structure and polymer type. Ru(II) complexes with extended aromatic ligands display excited state lifetimes longer than 2.4 μs , whereas the Ru(II) dye with the strongly hydrophobic structure 4,4'-dinonylbipyridine shows a lifetime 10 times shorter. Excited state lifetimes are longer in the case of cationic polymer supports. In order to have high $^1\text{O}_2$ production quantum yields, sensitizers with long excited state lifetimes, such as RDP^{2+} and RSD^{4-} , are required since the probability of excited state quenching by oxygen increases. Bimolecular quenching rate constants of the excited sensitizers by oxygen (k_q) are in the order of 10^8 in cationic polymers vs. 10^9 in silicone. This result shows that quenching of the excited Ru(II) complexes by molecular oxygen is more efficient in silicone than in the other polymers and agrees with the fact that the probability of quenching of the excited Ru(II) complexes by oxygen in the dyed supports equilibrated with air-saturated water ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$) is higher in silicone than in cationic supports. Therefore, we selected the hydrophobic RDP/pSil-i system as the more promising polymer-supported sensitizer for singlet oxygen disinfection testing. In addition, in the case of cationic (Ny^+ and Cel^+) membranes where the anionic RSD^{4-} complex was immobilized, significant leaching of the photosensitizer from the hydrophilic polymers was observed. Furthermore, scavenging experiments (data not shown) and $^1\text{O}_2$ detection experiments at 1270 nm (Figure 36) carried out with RDP/pSil-i system demonstrate $^1\text{O}_2$ production in water with long singlet oxygen lifetimes, which is an essential

requirement for efficient disinfection. These results could not be achieved with any other hydrophilic sensitizer/support system, since the bimolecular quenching constants and the quenching probabilities are lower, and singlet oxygen lifetimes are, in general, very low, due to singlet oxygen photogeneration in a water-like environment.

Good disinfection has been achieved with the RDP^{2+} /silicone system, which shows a rate of cell inactivation by $^1\text{O}_2$ up to $0.7 \times 10^5 \text{ CFU h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ with *E. coli* (Figure 37) and $1.1 \times 10^5 \text{ CFU h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ with *E. faecalis*. This result is consistent with high $^1\text{O}_2$ production by RDP^{2+} when immobilized in porous silicone and the reactive oxygen species lives long enough in this polymer to inactivate nearby bacteria. In addition, RDP^{2+} strongly binds to this support and photosensitizer leaching has not been detected by ultra-sensitive fluorescence spectroscopy with photon counting detection.

5. CONCLUSIONS.

Singlet oxygen photosensitization experiments have been carried out with different Ru(II) sensitizers supported on either hydrophilic cationic polymers or on hydrophobic porous silicone. These experiments have shown that silicone materials are adequate supports for immobilization of hydrophobic RDP^{2+} with no photosensitizer leaching into the water. In addition, this photosensitizing material produces singlet oxygen efficiently. However, the anionic RSD^{4-} photosensitizer immobilized in hydrophilic cationic polymers suffers from detachment and low probability of quenching by molecular oxygen, yielding inefficient singlet oxygen production. Photocatalytic water disinfection experiments using RDP/pSil-i material have been performed with *Escherichia coli* (gram-negative) and *Enterococcus faecalis* (gram-positive) bacteria and significant photodisinfection with visible light has been observed with both types of microorganisms.¹⁴⁶

Together with several national and international partners, we are currently up-scaling the water disinfection process (Figure 38) to use solar irradiation and compound parabolic collectors (CPC) containing the RDP^{2+} /porous silicone photosensitizing material in order to build an autonomous system capable of providing daily potable water to small rural communities (“Solwater” and “Aquacat” European Union-sponsored projects; see <http://www.psa.es/webeng/solwater/index.html> and <http://aquacat.univ-lyon1.fr/index.html> for further details on the project consortia).

¹⁴⁶ Orellana, G., Jiménez-Hernández, M. E., García-Fresnadillo, D. “Material Fotocatalítico y Método para la Desinfección de Agua” (Photocatalytic Material and Method for Water Disinfection). Span. Pat. Appl. 2226576, 2003.



Figure 38. Solar photoreactor installed in Madrid (40° N) for water disinfection tests using $^1\text{O}_2$ generated by photosensitization with polymer-supported Ru(II) polypyridyl complexes. The 1 m² CPC solar collector module of the photoreactor has been developed and manufactured by AoSol (Samora-Correia, Portugal).

Acknowledgements. The authors would like to thank the Spanish Ministry of Science and Technology (grant no. PPQ2000–0778–C02), the Madrid Autonomous Community (ref. 07M/0082/2000) and Carburos Metálicos, S.A. (Air Products), as well as the European Union (ICA4–CT–2002–10001, “SOLWATER” and ICA3–CT–2002–10028, “AQUACAT”) for supporting this project, and Dr. María Navarro for helpful advice.

(B) Appl. Catal. B: Environ., 2006, 69, 1–9.¹³⁸

SOLAR WATER DISINFECTION BY PHOTOCATALYTIC SINGLET OXYGEN PRODUCTION IN HETEROGENEOUS MEDIUM.

Laura Villén, Francisco Manjón, David García-Fresnadillo and and Guillermo Orellana*

Laboratory of Applied Photochemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain.

ABSTRACT.

Water disinfection in isolated rural areas of less-developed countries poses specific problems since operational expenses must be low, chemicals are not easily deployable and qualification of operators is scarce. Therefore, alternative technologies to the widespread chlorination have been considered for household use. We have evaluated the viability of a photocatalytic process for bacteria inactivation with sunlight, affordable 0.8--m^2 compound parabolic collectors (CPC) and an UV–Vis absorbing ruthenium(II) tris-chelate complex immobilized (2 g m^{-2}) onto porous silicone as singlet molecular oxygen generator. We have tested the efficiency of two CPC prototypes with different configuration of the photosensitizing material, namely, a coaxial- and a fin-type one. Mineral water flowing at 2 L min^{-1} and spiked with *Escherichia coli* or *Enterococcus faecalis* was subject to the photocatalytic treatment for 5 h (a $0.6\text{--}0.8\text{ MJ m}^{-2}\text{ L}^{-1}$ dose of $360\text{--}700\text{ nm}$ sunlight radiation at 40° N latitude). Using the fin-type reactor under these conditions, the bacterial survival for 10^4 to 10^2 CFU mL^{-1} initial concentrations drop to *ca.* 1% and 0.1% for *E. coli* and *E. faecalis*, respectively. The average disinfection rates are similar with both photoreactor designs, regardless the bacteria used (*ca.* 2×10^4 and $2 \times 10^6\text{ CFU L}^{-1}\text{ h}^{-1}$ for the low and the high initial levels of bacteria, respectively). The novel systems are comparable to or better than solid-supported TiO_2 photocatalysts at inactivating waterborne bacteria.

Keywords: *Solar Water Disinfection, Ruthenium Catalyst, Solar Collector, Singlet Oxygen.*

* Corresponding author: orellana@quim.ucm.es

Mailing address: Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain.

Phone: 34-91-3944220. Fax: 34-91-3944103.

1. INTRODUCTION.

About 15% of the world's population (more than one billion people), most of it in the less-favored regions of the planet, does not have access to enough fresh water to satisfy their daily needs. This number is forecast to double by 2015.¹⁴⁷ Such problem must be considered one of the most serious public health issues facing us. As an example, the United Nations reported 4.37 billion cases of diarrhoea annually in 2000.¹⁴⁷ Waterborne, water-washed and water-based diseases are associated with lack of improvement in domestic water supply and adequate sanitation. Therefore, provision of clean drinking water is necessary to protect human health and the environment. The development of low-cost effective methods for removal of pollutants in domestic drinking water would be a solution. Water disinfection in isolated rural areas of those regions poses specific problems since operational expenses must be necessarily low, disinfectants are difficult to supply periodically and qualification of operators is virtually nil. For this reason, alternative technologies to the widespread chlorination have been considered for household use.¹⁴⁸

For instance, boiling water for one to three minutes deactivates almost any disease-causing microorganisms. Nevertheless, this technology needs combustible materials (not always readily available) and it is applicable only to very small volumes of water. The so-called SODIS ("*solar disinfection*") process is a simple technology that can inactivate many waterborne pathogenic bacteria using just the combined effect of solar UV–A radiation and temperature. Transparent plastic bottles are filled with the polluted water and exposed to sunlight for (continuous) periods of not less than 6 h.¹⁴⁹ In spite of its advantages such as low cost and the absence of toxic by-products, the limited water volume subject to treatment (a maximum of 2 L per bottle) and the long time of the process (typically a 2–day exposure period to achieve complete inactivation on cloudy days), limit somewhat the application of the SODIS method.¹⁷

The combination of sunlight and a *photocatalyst* may be a promising option for areas with insufficient infrastructure but high yearly sunshine. The typical photocatalytic technology is based on the interaction of light with suspended semiconductor nanoparticles to produce highly oxidative species (typically the hydroxyl radical, HO^\bullet) from the adsorbed water. Such reactive oxygen species (ROS) destroy a large variety of co-adsorbed chemical pollutants and inactivate waterborne microorganisms.^{150,151} Photocatalysis using TiO_2 semiconductor particles works in the UV–A region of the solar spectrum and is widely used in advanced oxidation processes for water treatment

¹⁴⁷ Gleick, P. H. "*World's Water 2004–2005*", **2004**, Island Press, Washington DC, p. 1.

¹⁴⁸ Najm, I., Trussel, R. R., "*New and Emerging Drinking Water Treatment Technologies*" in *Identifying Future Drinking Water Contaminants*, **1999**, National Academy Press, pp. 220–243.

¹⁴⁹ <http://www.sodis.ch>

¹⁵⁰ Bahnemann, D., "*Photocatalytic Detoxification of Polluted Waters*" in *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 2, Boule, P. (ed.), **1999**, Springer, Berlin-Heidelberg, p. 285.

¹⁵¹ Wist, J., Sanabria, J., Dierolf, C., Torres, W., Pulgarin, C. "*Evaluation of Photocatalytic Disinfection of Crude Water for Drinking-Water Production*", *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2002**, *147*, 241–246.

with the hydroxyl radical.¹⁵² Nowadays, the use of compound parabolic collectors as an efficient technology to collect and focus both direct and diffuse solar radiation onto a transparent pipe carrying contaminated water, has demonstrated the feasibility to disinfect water using suspensions of TiO_2 photocatalyst.^{153,154}

Catalytic reactions called type II photosensitizations use photochemically active compounds (“photosensitizers”). Illumination of the latter with visible light produces *singlet* molecular oxygen by collisional (electronic) energy transfer from the excited state of the photosensitizer to the ground state of dioxygen. The term ‘singlet oxygen’, abbreviated $^1\text{O}_2$, normally refers to the $^1\Delta_g$ excited state of molecular oxygen.⁵⁴ This ROS lies 94.7 KJ mol^{-1} above the ground electronic state of O_2 and is a strong electrophile due to its low-lying lowest unoccupied molecular orbital. The transfer of energy between the sensitizer triplet state (efficiently reached by absorption of a photon) and O_2 can produce singlet oxygen at near-diffusion-controlled rates. With a lifetime on the order of 3–5 μs in water, the diffusion of $^1\text{O}_2$ from its generation point is restricted to potential targets within a pathlength of approximately 0.1 μm .¹⁵⁵ This short-lived reactive species is frequently responsible for the toxic effects on living systems of photosensitization under aerobic conditions, as one or more $^1\text{O}_2$ -reactive groups can be found in proteins, lipids and nucleic acids.¹⁴² Virtually all cell types investigated to date, from prokaryotic to mammalian cells, undergo irreversible damage leading to cell death by exposure to $^1\text{O}_2$.^{156,157,158,159,160} This cytotoxic effect has led to applications of photosensitized production of singlet oxygen that span from photodynamic therapy (PDT) of cancer¹⁶¹ to new technologies for water disinfection.¹⁴⁵ Photosensitizer dyes such as rose bengal, methylene blue or phthalocyanines provide a convenient way to generate $^1\text{O}_2$ by electronic energy transfer to O_2 with high production

¹⁵² Blanco, J., Malato, S. “*Solar Detoxification*”, **2003**, Unesco Publishing, Paris, p. 190.

¹⁵³ McLoughlin, O. A., Fernández, P., Gernjack, W., Malato, S., Gill, L. W., “*Photocatalytic Disinfection of Water Using Low Cost Compound Parabolic Collectors*”, *Solar Energy*, **2004**, 77, 625–633.

¹⁵⁴ Rincón, A. G., Pulgarin, C. “*Field Solar E. coli Inactivation in the Absence and Presence of TiO_2 : Is UV Solar Dose an Appropriate Parameter for Standardization of Water Solar Disinfection?*”, *Solar Energy*, **2004**, 77, 635–648.

¹⁵⁵ Dahl, T. A. “*Examining the Role of Singlet Oxygen in Photosensitized Cytotoxicity*” in *Aquatic and Surface Photochemistry*, Melz, G. R., Zepp, R. G., Crosby, D. G. (eds.), **1994**, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 241–258.

¹⁵⁶ Dahl, T. A. “*Direct Exposure of Mammalian Cells to Pure Exogenous Singlet Oxygen ($^1\text{D}_g\text{O}_2$)*”, *Photochem. Photobiol.*, **1993**, 57, 248–254.

¹⁵⁷ Nagano, T., Tanaka, T., Mizuki, H., Hirobe, M. “*Toxicity of Singlet Oxygen Generated Thermolytically in Escherichia coli*”, *Chem. Pharm. Bull.*, **1994**, 42, 883–887.

¹⁵⁸ Ben-Hur, E., Geacintov, N. E., Studamire, B., Kenney, M. E., Horowitz, B. “*The Effect of Irradiance on Virus Sterilization and Photodynamic Damage in Red Blood Cells Sensitized by Phthalocyanines*”, *Photochem. Photobiol.*, **1995**, 61, 190–195.

¹⁵⁹ Shimizu-Takahama, M., Egashira, T., Takahama, U. “*Inhibition of Respiration and Loss of Membrane Integrity by Singlet Oxygen Generated by a Photosensitized Reaction in Neurospora crassa conidia*”, *Photochem. Photobiol.*, **1981**, 33, 689–694.

¹⁶⁰ Soncin, M., Fabris, C., Buseti, A., Dei, D., Nistri, D., Roncucci, G., Jori, G. “*Approaches to Selectivity in the Zn(II)–Phthalocyanine-Photosensitized Inactivation of Wild-Type and Antibiotic-Resistant Staphylococcus aureus*”, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2002**, 1, 815–819.

¹⁶¹ Bonnett, R. “*Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*”, **2000**, Gordon and Breach Science Publishers, London.

quantum yields (>0.5).¹⁶² More recently, it has been shown that coordination complexes of ruthenium(II) with polyazaheterocyclic chelating ligands are also able to photosensitize the production of $^1\text{O}_2$ with high efficiency (up to 100% depending on the metal complex and the solvent).^{73,163} The advantage of such metal complexes is their higher photo- and thermal stability and the feasibility of “fine tuning” their spectroscopic, photophysical and solubility properties by a judicious selection of the coordinating polyazaheterocyclic ligands.

Most of the photosensitized water disinfection procedures described in the literature employ singlet oxygen photosensitizers *dissolved* in the aqueous medium containing also a suspension of the test microorganisms.^{70,143,145,150,164,165} However, there are scarce investigations on bacteria inactivation processes using $^1\text{O}_2$ generated by *solid-supported* photosensitizer dyes.^{58,166} Nevertheless the attachment of the ROS generator to an insoluble material would avoid the necessity of recovering the dissolved photosensitizer from the treated water.

Many researchers have developed a variety of solid supports, immobilization procedures and photosensitizer dyes to generate $^1\text{O}_2$, mostly for preparative oxygenations in non-aqueous solvents.^{167,168} The photosensitized production of singlet oxygen in aqueous suspensions of ruthenium(II) complexes bound to different polymers has also been reported.⁹⁹

The present study involves the use of a solar photocatalytic reactor to generate $^1\text{O}_2$, based on a novel polymer-supported sensitizer and aimed to daily domestic water disinfection in rural communities of less-favored countries. A ruthenium(II) tris-chelate complex has been prepared as singlet oxygen photosensitizer and immobilized on porous silicone. Pilot experiments have been carried out using the solar reactor containing a compound parabolic collector (CPC). Mineral water spiked with *Escherichia coli* or *Enterococcus faecalis* was exposed to sunlight in the presence of the photosensitizing material and the bacterial survival at different times in a single day of treatment has been monitored.

¹⁶² Wilkinson, F., Helman, W. P., Ross, A. B. “Quantum Yields for the Photosensitized Formation of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution”, J. Phys. Chem. Ref. Data, **1993**, 22, 113–262.

¹⁶³ Zhang, X., Rodgers, M. A. J., “Energy and Electron Transfer Reactions of the MLCT State of Ru(II) Tris(bipyridyl) with Molecular Oxygen: a Laser Flash Photolysis Study”, J. Phys. Chem., **1995**, 99, 12797–12803.

¹⁶⁴ Acher, A. J., Juven, B. J. “Destruction of Coliforms in Water and Sewage Water by Dye-Sensitized Photooxidation”, Appl. Environ. Microbiol., **1977**, 33, 1019–1022.

¹⁶⁵ Acher, A. J., Fischer, E., Turnheim, R., Manor, Y. “Ecologically Friendly Wastewater Disinfection Techniques”, Water Res., **1997**, 31, 1398–1404.

¹⁶⁶ Dahl, T. A., Midden, W. R., Hartman, P. “Pure Singlet Oxygen Cytotoxicity for Bacteria”, Photochem. Photobiol., **1987**, 46, 345–352.

¹⁶⁷ Wahlen, J., De Vos, D. E., Jacobs, P. A., Alsters, P. L., “Solid Materials as Sources for Synthetically Useful Singlet Oxygen”, Advanced Synthesis and Catalysis, **2004**, 346, 152–164.

¹⁶⁸ Paczkowski, J., Neckers, D. C. “Polymer-Based Sensitizers for the Formation of Singlet Oxygen” in Nonhomogeneous Media, Fox, M. E. (ed.), **1985**, ACS Symposium Series 278, American Chemical Society, pp. 223–242.

2. EXPERIMENTAL.

2.1. Materials and instrumentation.

The photosensitizer tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) dichloride (abbreviated RDP $^{2+}$) was synthesized and purified from the commercial chelating ligand and ruthenium(II) trichloride hydrate following established procedures.⁷³ The ruthenium(II) coordination complex was immobilized on porous poly(dimethylsiloxane) (CulturSil, Cellaon, Bereldange, Luxembourg; single side 0.5-mm thick porous silicone on 1500 x 35 x 1 mm non-porous silicone, abbreviated “pSil”, Figure 39) by hydrophobic interactions (see Section 2.2). Disinfection of the solar reactor between different runs was carried out with 0.3% (by volume) hydrogen peroxide solution (Scharlau, Barcelona, Spain). The assays were performed in mineral water with low salt contents (AQUAVIVA, AquaService, Madrid, Spain) spiked with the tested bacteria (see below).

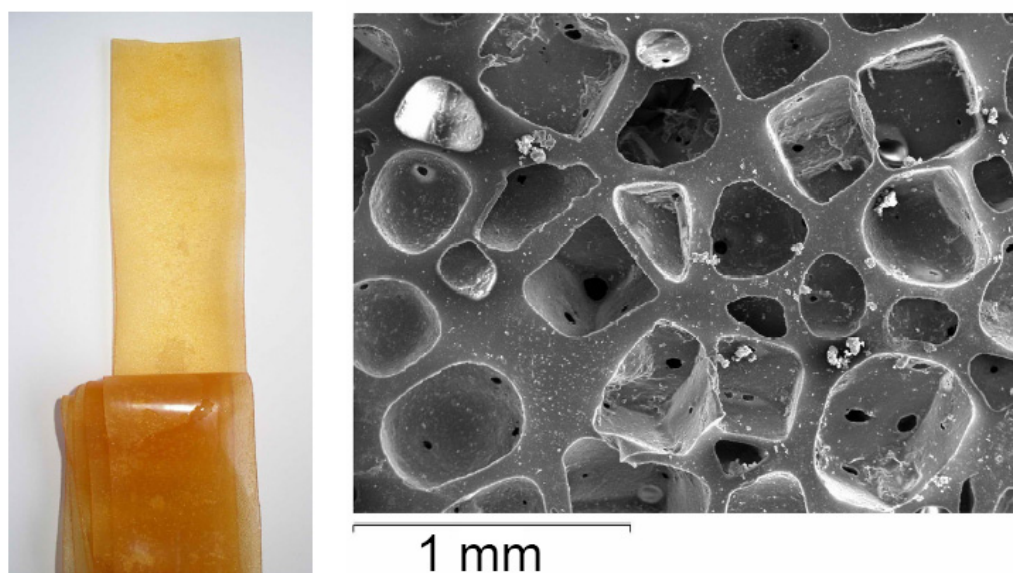


Figure 39. Photograph of a 35-mm wide porous silicone (pSil) strip with RDP $^{2+}$ photosensitizer dye (left) and a scanning electron micrograph of an undyed pSil strip (right).

Scanning electron microscopy was performed at UCM Central Instrumentation Facilities with a Jeol JM-6400. Electronic absorption spectra were collected in a Varian Cary 3Bio UV-Vis spectrophotometer.

2.2. Preparation of silicone strips with immobilized RDP $^{2+}$ photosensitizer.

The pSil strips were conditioned by boiling them for 2 h in purified water (Millipore Milli-Q, MA). Batches of 10 pre-treated strips were dip in 3.4 L of a 7.0×10^{-4} M

solution of the RDP^{2+} dye in a methanol-water mixture (1:9 v/v) and heated for 19 h under reflux. The resulting orange-dyed strips (Figures 39 and 40) were washed six times under reflux for 3 h with 3.4 L (each) of purified water to remove the photosensitizer molecules weakly adsorbed onto the silicone surface. The final concentration of *free* sensitizer in the supernatant after the thorough washing of the dyed material was *ca.* 50 nM, as quantified with a Jobin-Yvon-Horiba SPEX-Fluoromax 2 photon counting fluorometer fit with a red-sensitive PMT detector (the $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ of the sensitizer luminescence is 632 nm). In this way, the resulting strips are loaded with *ca.* 2 g m^{-2} of RDP^{2+} photosensitizer as calculated by absorption spectroscopy ($\epsilon_{461} = 32400 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) from the amount of dye in the combined washouts. The dyed material is kept with the resulting moisture in zip-lock plastic bags. To ensure sterility, the RDP^{2+} -loaded strips can be autoclaved at any time (121 °C, 16 min).

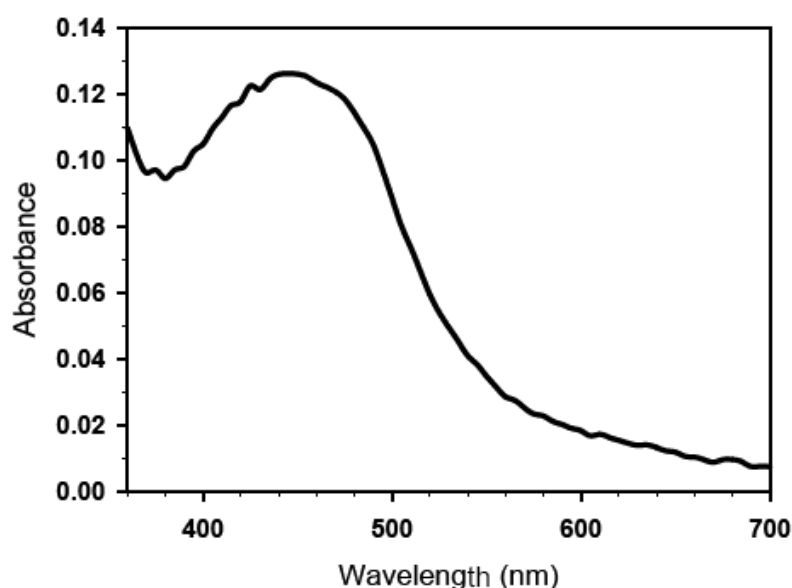


Figure 40. Absorption spectrum of RDP^{2+} immobilized onto pSil (2 g m^{-2}) under water.

2.3. Solar photocatalytic reactors.

The solar experiments were carried out using two different compound parabolic collectors (CPCs),¹¹² developed and manufactured by AoSol (Samora Correia, Portugal). The two CPC configurations differ only in the geometrical shape of the polypropylene support used to hold the photosensitizing material placed inside of borosilicate glass tubes (1500 mm long, 50-mm o.d., Schott, Germany) and, consequently, the shape of the optimized geometry of the non-imaging reflector. The *coaxial*-type solar collector (Figure 41) comprises five W-shaped section aluminium foil mirrors with a coaxial cylindrical polypropylene piece (1500 x 32 mm) along the

axis of each glass tube. The *fin*-type solar reactor contains seven U-shaped aluminium foil mirrors and a rectangular prism polypropylene piece (1500 x 41 x 6 mm) placed in the axis of each glass tube perpendicularly to the collector inclination. The overall surface collector area of each CPC is 1 m², which determines the number of pipes connected in series to be used with each configuration depending on the collector type.

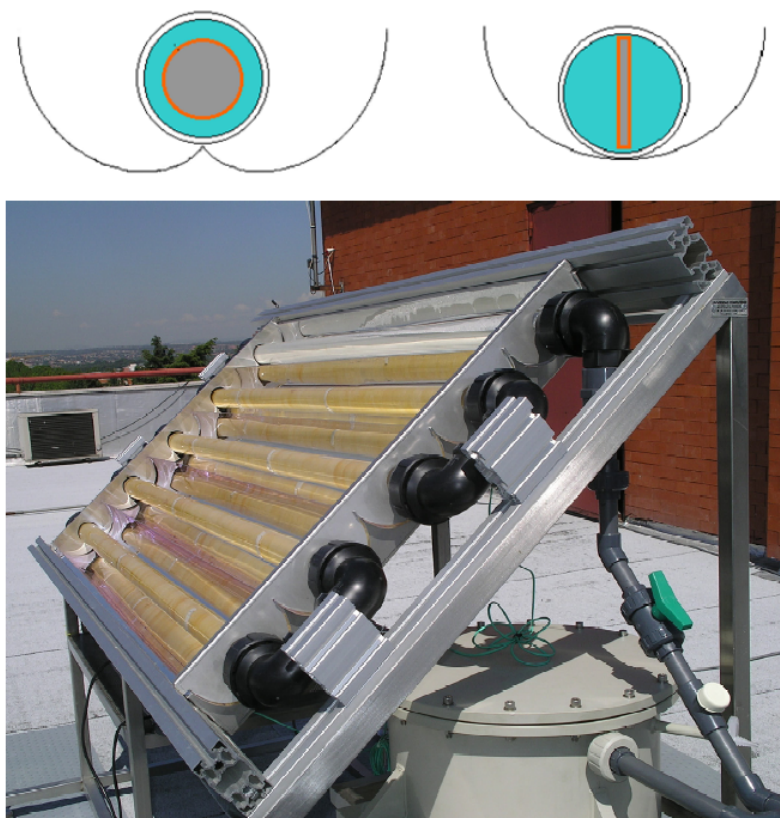


Figure 41. Schemes of the coaxial-type (top left) and fin-type CPC configurations (top right). Solar photoreactor for water disinfection test with the photosensitizing material into the glass tubes of the CPC (bottom).

Each photoreactor system also comprises a home-made stainless steel supporting frame (UCM Central Machining Facilities), tilted 40° and aligned in an East-West direction, a PVC piping circuit (25-mm o.d.) with ball valves, a 12-W centrifugal pump (NH-10PX-H, Pan World, Japan), a rubber sampling port and a 35-L polypropylene reservoir (Roca i Roca, Barcelona, Spain) with a venting filter. The solar photoreactor also holds the sensing and logging setup for continuous temperature measurements at the inlet and outlet of each CPC (477 model, Testo, Lenzkirch, Germany) and a fiberoptic spectroradiometer (Guided Wave 260 spectrometer, CA, with 1-m 400-μm fused silica waveguide, cosine corrector adapter and Compaq computer for data

acquisition and instrument control). The photoreactor prototypes were placed on top of the Chemistry building at UCM (40° N).

Before starting the water circulation, the photosensitizing strips were rolled up around the inner polypropylene support of the photoreactor tubes and fixed with PTFE ribbon at the junctions between successive strips. Four out of the 5 (coaxial-type) and five out of the 7 (fin-type) plastic supports of the CPCs were covered with the pSil strips containing the immobilized photosensitizer dye. In this way, the overall area of illuminated collector in both photoreactors is similar (*ca.* 0.8 m²).

2.4. Solar photocatalytic disinfection assays.

The bacterial strains used to evaluate the efficiency of singlet oxygen-mediated water disinfection by the polymer-supported Ru(II) photocatalyst have been *Escherichia coli* CECT 4624 (CECT stands for “Colección Española de Cultivos Tipo”), equivalent to ATCC 23631 and *Enterococcus faecalis* CECT 5143 (ATCC 11700). Fresh liquid cultures were prepared by inoculating an aliquot into fresh Luria-Bertani (LB) broth (Pronadisa, Madrid, Spain) and incubated overnight at 37 °C with constant rocking under aerobic conditions. Aliquots of this culture were inoculated daily into fresh medium and incubated aerobically overnight at 37 °C. Bacterial growth was monitored by recording the absorbance at 600 nm. Microorganisms in their stationary growth phase were used for the disinfection testing experiments because such a situation is probably more similar to that found in natural waters, where the availability of nutrients is limited in comparison to a rich culture broth.

The solar disinfection assays have been performed with two initial bacteria concentrations in mineral water (10^2 and 10^4 CFU mL⁻¹). Previous studies of sterility and viability of both bacterial strains in such water were carried out with successful results. The total volume of bacteria-spiked mineral water treated in each experiment was 10 L in the coaxial-type and 17.5 L in the fin-type photoreactor. The operational water flow rate was 2 L min⁻¹. The CPCs were exposed to sunlight for 5 h and the samples were taken at definite time intervals during the illumination period. All the experiments were run at least three different days. The water and ambient temperatures in all experiments with the solar reactors were continuously monitored and ranged from 25 to 48 °C and 15 to 35 °C, respectively. No differences in the final water temperature were found between the coaxial- and fin-type photoreactors.

To evaluate the disinfection efficiency, samples of mineral water inoculated with the selected bacteria or after treatment for a certain period of time in the solar reactor were plated on LB broth agar and incubated at 37 °C for 20 h before (manual) colony counting. Serial dilutions of the samples were carried out when necessary. In order to minimize quantification errors, samples from those tests with an initial bacteria level of 10^4 CFU mL⁻¹ were plated 16 times on a Petri dish with an inoculation volume of 10 µL each. Error bars were statistically determined from the data of 32 replicates (two dishes), at 95% confidence level. Samples from runs with an initial bacteria

concentration of 10^2 CFU mL^{-1} were spread out over the full agar plate. In this case the error bars were statistically determined from the data of 5 replicates, at a 95% confidence level.

3. RESULTS AND DISCUSSION.

In our preliminary work,¹³⁷ an experimental device for simulated solar irradiation at laboratory scale was designed and constructed to test the viability of water disinfection with photocatalytic generation of $^1\text{O}_2$ by novel polymer-supported sensitizing systems. Based on the evidence of singlet molecular oxygen production by Ru-doped silicone and the successful results of the initial disinfection experiments,^{137,146} we have scaled up the photoreactor and tested its performance for inactivating waterborne bacteria using the daily sunlight dose.

The volume of treated water (10–17.5 L, for the coaxial- and fin-type reactor, respectively) ensures that all the tubes of the system plus the pipes and part of the reservoir are filled while keeping manageable the amount of mineral water used for both the assays and the reactor clean-up and conditioning. Moreover, it is essential that the water entering the reservoir of the solar reactor after passing through the light-collecting tubes (Figure 41), falls freely from the top onto the lower-lying water surface in order to ensure enough aeration. A depletion of dissolved oxygen would hinder $^1\text{O}_2$ photogeneration by the polymer-supported sensitizer.

Three types of assays were carried out: (i) *control* runs with neither pSil strips nor RDP²⁺ dye, to check for the possible disinfection by the combined effect of sunlight plus temperature; (ii) *blank* runs with sensitizer-free pSil to determine if bacteria attach to the polymer support during the illumination time to yield an apparent water disinfection, and (iii) experimental runs with RDP/pSil photosensitizing material to evaluate the bacteria inactivation produced by the singlet oxygen generated in heterogeneous phase (Figures 42–44). Each data point represents an average of three similar tests carried out on different days with the solar reactors.

The incident solar radiation flux is determined by the photoreactors location. For Madrid latitude (40° N) an average daily energy flux of 17 MJ m^{-2} in the 305–2800 nm region has been measured (Spanish National Institute for Meteorology data at its UCM campus headquarters). We have determined for a typical sunny day, between 11:00 and 16:00 h GMT+01:00, an average irradiance of (400 ± 25) W m^{-2} in the 360–700 nm spectral region that covers the visible absorption band of RDP²⁺ (Figure 40).

Figure 42 shows the evolution of the waterborne *E. faecalis* and *E. coli* viability as a function of the accumulated solar energy per liter of treated water during daily tests performed with the *coaxial*-type photoreactor for two different initial levels of the microorganisms. The lowest initial CFU value tested (10^2 CFU mL^{-1}) was aimed to simulate the bacteria load found in many of the natural waters currently used for drinking and sanitation in isolated rural communities of less-favored countries.

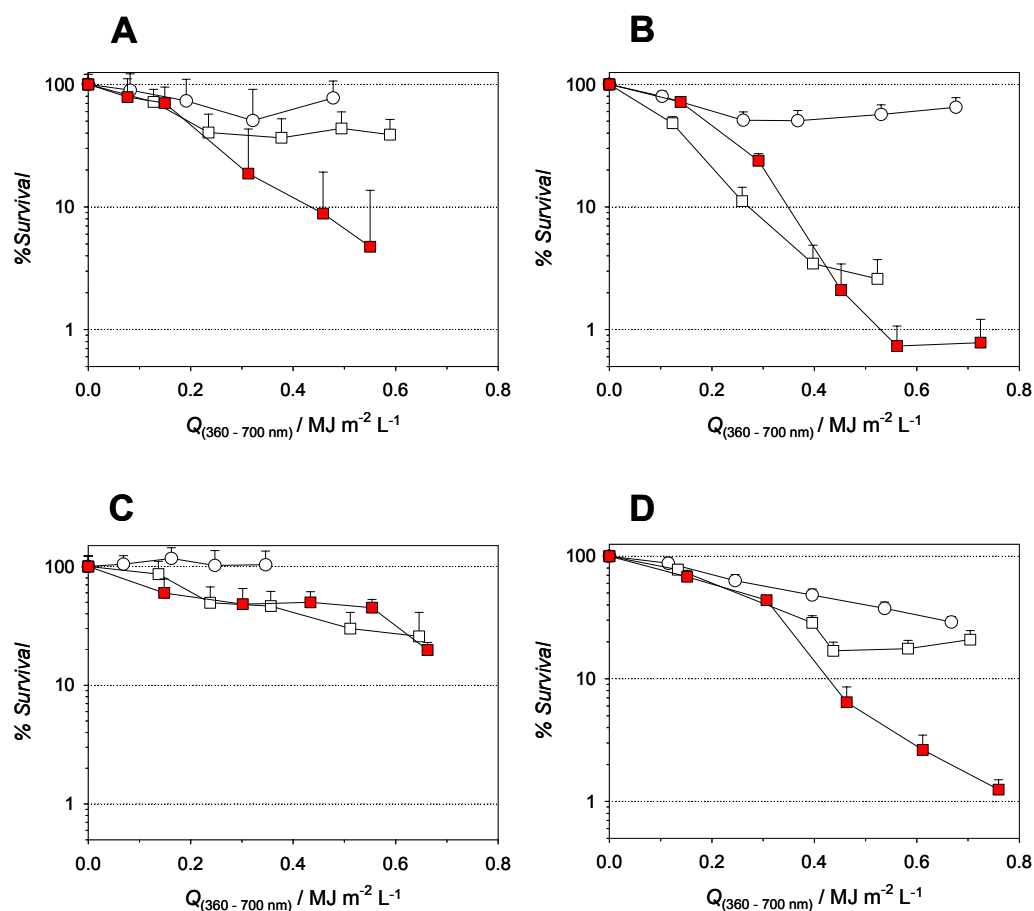


Figure 42. Survival of waterborne bacteria under solar irradiation in the coaxial-type reactor without solid-supported photosensitizer or polymer strips (O), with only the pSil strips (\square) and with the Ru(II) photosensitizing strips (\blacksquare). (A) *E. faecalis* at 10^2 CFU mL $^{-1}$, (B) *E. faecalis* at 10^4 CFU mL $^{-1}$, (C) *E. coli* at 10^2 CFU mL $^{-1}$ and (D) *E. coli* at 10^4 CFU mL $^{-1}$.

The combined effect of sunlight and temperature is able to inactivate only *ca.* 10% of the initial *E. faecalis* and *E. coli* concentration after 5 h of sunlight (the typical tests run from 11:00 to 16:00 h). The starting bacteria level in water during the “blank” experiments (*i.e.* using just the polymer support) drops *ca.* one order of magnitude. This result shows that both bacteria attach to the porous silicone during the illumination time. The colonization rate is faster for the highest initial concentrations of bacteria. In the presence of immobilized photosensitizer, sunlight inactivates bacteria down to *ca.* 10 and 100 CFU mL $^{-1}$ for the 10^2 and 10^4 CFU mL $^{-1}$ starting levels, respectively. A few runs which collected more than $0.8 \text{ MJ m}^{-2} \text{ L}^{-1}$ of sunlight in the 360–700 nm region reached complete loss of cultivability of *E. faecalis* at the two initial levels tested (data not shown). The bacteria inactivation rates are higher for waters containing 10^4 CFU mL $^{-1}$ initial levels probably due to a more efficient adsorption of bacteria onto the photosensitizing material. We have to bear in mind that the $^1\text{O}_2$ lifetime in water allows

just for a 0.1 μm free mean pathway¹⁵⁵ so that only bacteria in intimate contact with the polymer-supported photocatalyst will be subject to the inactivation effect of this reactive oxygen species.

Figure 43 shows the evolution of the *E. faecalis* and *E. coli* survival as a function of the accumulated solar energy per liter of treated water during the assays with the *fin*-type reactor. Unlike the experiments run on the coaxial prototype, the combined effect of sunlight and temperature produced a reduction of at least one order of magnitude in the initial bacteria loading. No significative differences in the water temperature of the coaxial- and fin-type reactors were measured; therefore the differences on the bacteria inactivation are due to photochemical effects. This result can be attributed to the different void cross-sections of the two setups (Figure 41, top) that determine a lower linear velocity (i.e. longer residence time) of the water in the glass tubes containing the solid polypropylene fin compared to the velocity through the photoreactor glass tubes containing the coaxial plastic cylinder. For the same reason, the decrease in the waterborne bacteria count in the presence of the undyed pSil strips (Figure 43) can be attributed to a more efficient adsorption of *E. coli* and *E. faecalis* to the porous polymer material. Similarly to the experiments with the coaxial-type setup, the presence of polymer-supported sensitizer produces a photodynamic effect. In the presence of pSil containing the Ru(II) dye, a two to three orders of magnitude reduction of the initial bacteria loading has been achieved.

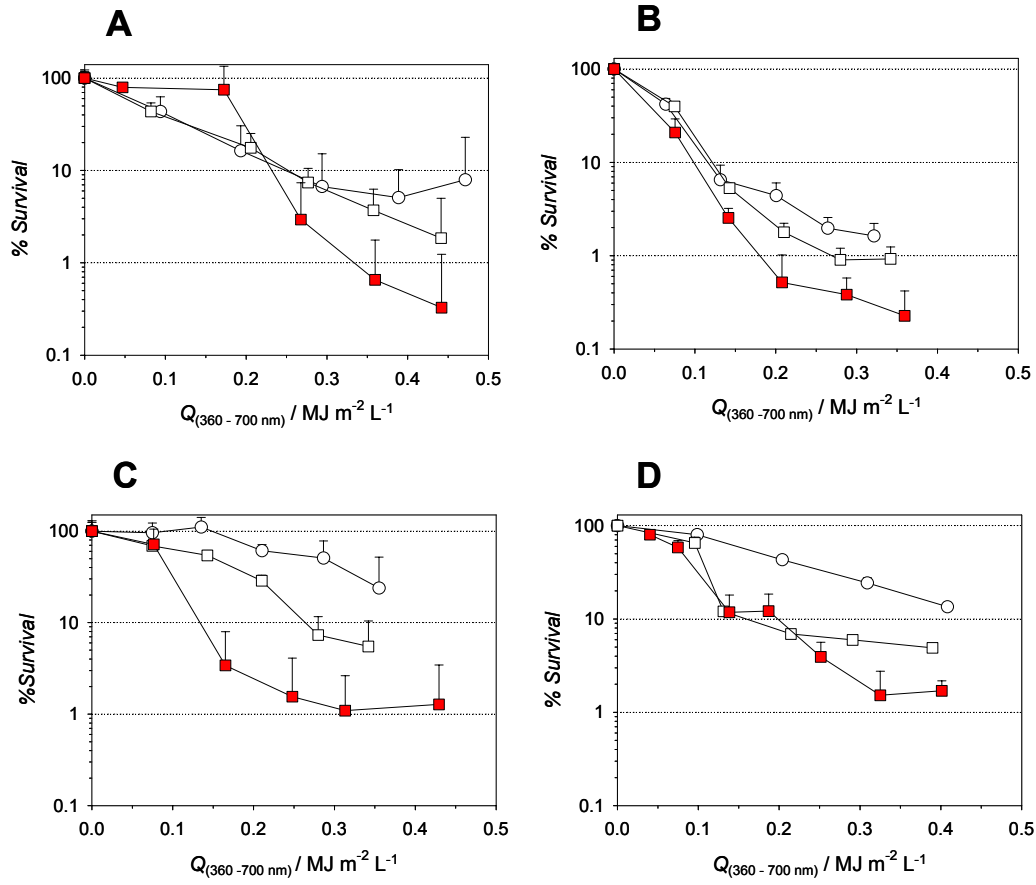


Figure 43. Survival of waterborne bacteria under solar irradiation in the fin-type reactor without solid-supported photosensitizer or polymer strips (O), with only the pSil strips (□) and with the Ru(II) photosensitizing strips (■). (A) *E. faecalis* at 10^2 CFU mL $^{-1}$, (B) *E. faecalis* at 10^4 CFU mL $^{-1}$, (C) *E. coli* at 10^2 CFU mL $^{-1}$ and (D) *E. coli* at 10^4 CFU mL $^{-1}$.

Figure 44 shows comparisons of both prototypes at different initial levels of bacteria. It appears that the disinfection rates with the photosensitizing material are always higher with the fin-type reactor. Taking into account that the illuminated photosensitizer area-to-water volume ratio is higher in the coaxial reactor (0.057 vs. 0.037 m 2 L $^{-1}$ for the fin-type) but the collector area is identical in both configurations, the fin-type turns out to be even more efficient for water disinfection. The lower linear velocity of the water flowing through the fin-type compared to the coaxial collector (0.11 vs. 0.36 m s $^{-1}$, respectively) will probably make that a higher number of bacteria attaches to the Ru-dyed porous silicone. This result stresses that closeness of the photocatalyst and the target microorganisms is essential to achieve the photodynamic effect.

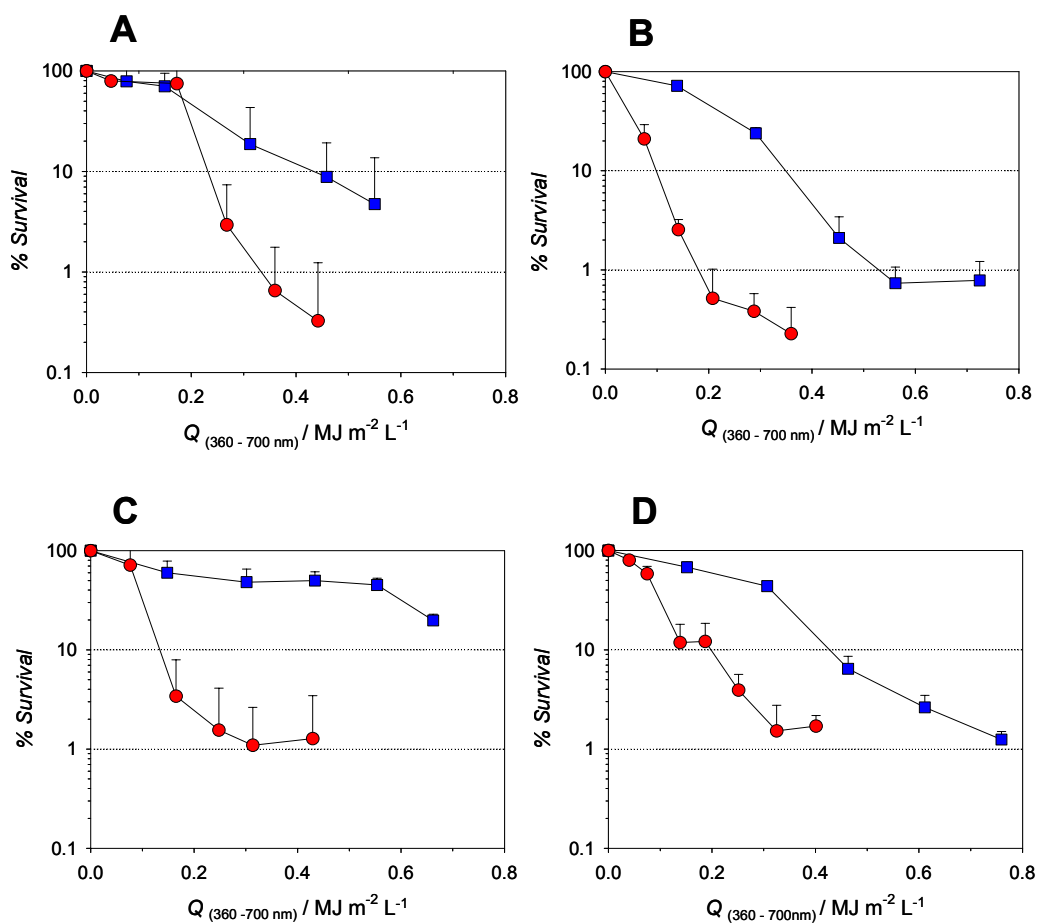


Figure 44. $^1\text{O}_2$ -mediated solar inactivation of waterborne bacteria with the coaxial-type (■) and the fin-type photochemical reactors (●). (A) *E. faecalis* at 10^2 CFU mL $^{-1}$, (B) *E. faecalis* at 10^4 CFU mL $^{-1}$, (C) *E. coli* at 10^2 CFU mL $^{-1}$, and (D) *E. coli* at 10^4 CFU mL $^{-1}$.

Nevertheless, the experiments with the fin-type collector did not lead to complete inactivation of the initial bacteria. However, we must underline that the accumulated sunlight dose (energy per liter) is lower in the fin-type collector runs due to its larger water volume compared to the coaxial unit. Other researchers have observed that a minimum dose of accumulated sunlight radiation is required for disinfection with solar photocatalytic TiO_2 processes.^{51,52}

Most of the observed bacteria inactivation profiles (Figure 44) show a biphasic behaviour characterized by a quasi-stationary initial state followed by a steeper decline in the microorganism survival. The induction period may be attributed to the need of multiple $^1\text{O}_2$ hits on the bacterial wall to produce the cell death.^{70,169,170} Moreover, as the

¹⁶⁹ Dahl, T. A., Midden, W. R., Hartman, P. E. "Comparison of Killing of Gram-negative and Gram-positive Bacteria by Pure Singlet Oxygen", J. Bacteriol., **1989**, 171, 2188–2194.

photosensitizer is immobilized onto a solid support and $^1\text{O}_2$ is a short-lived species, bacteria must become adsorbed onto the silicone surface to be deactivated. The smooth slope of the initial stage might correspond to the bacteria adsorption onto the polymer material, the kinetics of which is typically first-order.¹⁷¹ The steepest decline of all inactivation profiles (Figure 44) can be fit successfully to a first-order kinetics Chick-Watson model (eq. m):

$$N = N_0 e^{-kEt} = N_0 e^{-kQ} \quad (\text{m})$$

where N represents the bacteria concentration at each time during the solar reactor experiment, k is the bacteria inactivation rate constant and Q is the accumulated radiation dose per liter of water in the 360–700 nm range (in $\text{J m}^{-2} \text{L}^{-1}$). Q is equivalent to the radiant energy fluence rate ($E/W \text{ m}^{-2}$) multiplied by the illumination time (t). The calculated rate constants, taking into account a measured average solar irradiance of $(400 \pm 25) \text{ W m}^{-2}$ in the 360–700 nm range (see above) and 5 h exposure to sunlight (see Section 2.4), are collected in Table 9.

Table 9. Inactivation constants from survival curves (Figure 44) for *E. coli* and *E. faecalis* experiments with the solar reactors and photocatalytic material.

Microorganism	$N_0 / \text{CFU mL}^{-1}$	Coaxial-type		Fin-type	
		$k / \text{MJ}^{-1} \text{m}^2 \text{L}$	r^2	$k / \text{MJ}^{-1} \text{m}^2 \text{L}$	r^2
<i>E. coli</i>	10^2	1.84 ± 0.38	0.87	33.07 ± 5.58	0.97
<i>E. faecalis</i>	10^2	4.34 ± 0.76	0.95	33.78 ± 1.51	0.99
<i>E. coli</i>	10^4	3.73 ± 0.67	0.95	19.81 ± 3.22	0.97
<i>E. faecalis</i>	10^4	4.66 ± 0.92	0.95	21.49 ± 0.80	0.99

The observed first order decay process is not without precedent: for instance, bacteria inactivation by $^1\text{O}_2$ obeys first-order kinetics, both in homogeneous⁷⁰ and heterogeneous systems.¹⁷² The calculated k values in Table 9 contain contributions of the combined UV/thermal (“SODIS”) effect of sunlight on cell death,¹¹⁴ the process of bacteria adsorption onto the polymer¹⁷¹ and the photosensitized bacteria inactivation, all of them first-order processes. $^1\text{O}_2$ -mediated disinfection in homogeneous media proceeds faster than bacteria inactivation by polymer-supported dyes. For instance, the *E. coli* deactivation rate constants by $^1\text{O}_2$ generated in solution measured by Schäfer *et al.* (5.9 – $30.1 \text{ MJ}^{-1} \text{m}^2$ depending on the rose bengal concentration)⁷⁰ are *ca.* one order of magnitude higher than ours (Table 9), taking into account the volume correction for our photoreactors (10–17.5 L depending on the prototype geometry). A closer contact

¹⁷⁰ Lin, Q., Tsuchido, T., Makano, M. “Photodynamic Inactivation of Bacteria on Immobilized *a*-Terthienyl Film”, Appl. Microbiol. Biotechnol., **1991**, 35, 585–590.

¹⁷¹ Liu, Y. “Adhesion Kinetics of Nitrifying Bacteria on Various Thermoplastic Supports”, Colloids Surf. B.: Biointerf., **1995**, 5, 213–219.

¹⁷² Bezman, S. A., Burtis, P. A., Izod, T. P. J., Thayer, M. A. “Photodynamic Inactivation of *E. coli* by Rose Bengal Immobilized on Polystyrene Beads”, Photochem. Photobiol., **1978**, 28, 325–329.

between the photosensitizing dye and the target bacterial membrane is favored in homogeneous medium, allowing the $^1\text{O}_2$ action on the cell wall before its return to the ground state.

Regardless the initial bacteria concentration we used, inactivation of *E. coli* seems to proceed always at a slower pace than inactivation of *E. faecalis* (Table 9) although the final inactivation levels seem to be similar for both bacterial strains under our experimental conditions. This is probably due to the lipopolysaccharide (LPS) outer membrane of the gram-negative bacteria which is absent in the gram-positive microorganisms. The LPS barrier is a physico-chemical protection that reactive oxygen species generated outside the bacteria must penetrate to interact with a vital target such as the cell membrane. This capability offers some protection to the gram-negative strains from (external) toxic agents.¹⁷³ Other researchers have observed a similar behavior in disinfection experiments with *dissolved* photosensitizers such as methylene blue, rose bengal or porphyrins.^{145,174,175}

In our preliminary laboratory experiments with a collector-free tubular photoreactor and a 150-W Xe lamp (simulated sunlight) we found smaller disinfection rates: less than 10% of the initial bacteria survived after a 9 h photocatalytic treatment with an accumulated incident light dose of $60 \text{ MJ m}^{-2} \text{ L}^{-1}$ (360–700 nm).¹³⁷ For such light dose, the *average* inactivation rate found in the laboratory reactor (1.1×10^5 and $0.7 \times 10^5 \text{ CFU h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ for a 10^3 CFU mL^{-1} initial concentration of *E. faecalis* and *E. coli*, respectively) is much lower than the *average* inactivation rate found for any of the pilot photoreactors (*ca.* 1.9×10^4 and *ca.* $1.9 \times 10^6 \text{ CFU h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ for 10^2 and a 10^4 CFU mL^{-1} initial concentration, respectively, regardless the bacteria tested). This dramatic difference is due to the fact that the laboratory experiments were performed with a cylindrical piece of porous silicone, the illuminated area of which is much smaller (relatively to the water volume) than the photosensitizing material inside the solar photoreactors.

Although far less relevant for practical applications, the singlet oxygen-mediated water disinfection is more efficient when the RDP²⁺ photosensitizer is *dissolved* in water instead of immobilized on the polymer support. For instance, we have achieved in homogeneous media an average inactivation rate of $3 \times 10^6 \text{ CFU h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ for a 10^4 CFU mL^{-1} initial concentration of *E. faecalis* when 10 nM of ruthenium dye is added (unpublished results). In this case, the cationic photosensitizer binds to the (anionic) bacterial wall enhancing the damaging power of the short-lived $^1\text{O}_2$.

Comparison of waterborne bacteria inactivation with the novel photocatalytic process based on $^1\text{O}_2$ sensitization in heterogeneous phase and HO^\bullet generation by solid-

¹⁷³ Jori, G., Brown, S. B. "Photosensitized Inactivation of Microorganisms", Photochem. Photobiol. Sci. **2004**, 3, 403–405.

¹⁷⁴ Malik, Z., Hanania, J., Nitzan, Y. "Bactericidal Effects of Photoactivated Porphyrins-An Alternative Approach to Antimicrobial Drugs", J. Photochem. Photobiol. B., **1990**, 5, 281–293.

¹⁷⁵ Minnock, A., Vernon, D. I., Schofield, J., Griffiths, J., Parish, J. H., Brown, S. B. "Photoinactivation of Bacteria. Use of a Cationic Water-Soluble ZincPhthalocyanine to Photoinactivate both Gram-negative and Gram-positive Bacteria", J. Photochem. Photobiol. B., **1996**, 32, 159–164.

supported TiO_2 is difficult due to (i) the limited number of disinfection reports using *fixed* TiO_2 ; (ii) the various *E. coli* strains used in the different laboratories, and (iii) the distinct spectral regions of the sunlight absorption by the titanium and ruthenium photocatalysts. For instance, Lonnen *et al.*⁴⁵ have reported the bacteria inactivation effect of TiO_2 immobilized onto silicone-coated acetate sheets (as much as 250 g m^{-2} photocatalyst loading). The sheets are introduced into water-filled 100-mL glass bottles, with the plastic sheet covering half of the internal surface and the TiO_2 coating facing the central axis. The device achieved 5.4 *log* unit reduction in the viability of a $3 \times 10^5 \text{ CFU mL}^{-1}$ *E. coli* (DH5 α) suspension after 1.5 h of simulated solar exposure (4 KJ L^{-1} in the 300–400 nm UV range) equivalent to an average $1.7 \times 10^8 \text{ CFU L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ inactivation rate.⁴⁵

A solar 0.25--m^2 CPC with two tubes of coaxial-type photoreactor geometry has demonstrated to inactivate *E. coli* K12 (CECT 4624) using 19.3 g m^{-2} of TiO_2 supported onto fiberglass paper.¹⁷⁶ For instance, for a UV dose of 3 KJ L^{-1} (80 min illumination time), the supported photocatalyst can reduce two orders of magnitude the initial bacteria level (10^4 CFU mL^{-1}) in 5.4 L of water yielding a $7.8 \times 10^6 \text{ CFU L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ average inactivation rate. Therefore, our solar photosensitizing systems to disinfect water perform equally or better than photocatalytic reactors using solid-supported TiO_2 in terms of bacteria inactivation rate, taking into account that the photocatalyst loading we use is 10–100 times lower than the titania-based systems.

So far we have tested our photosensitizing material for up to one month of continuous (natural) sunlight exposure. The oxygen quenching efficiency of the original Ru photocatalyst (85% of its excited states are quenched by O_2) and the bacteria inactivation rate of the dyed support are maintained. However, as we observe some color change of the material, we are currently investigating this issue to determine the photochemistry of the catalyst embedded in the silicone support and how to slow it down.

4. CONCLUSIONS.

Common waterborne bacteria are sensitive to photocatalytic treatment with sunlight and a polymer-supported ruthenium polypyridyl sensitizer, provided the biocompatible material is porous enough to allow reactive singlet oxygen species reaching the cell membrane. However, total inactivation (*i.e.* absence of culturability) of the test microorganisms has not been achieved after 5 h of solar illumination at 40° N latitude under the set of experimental conditions assayed (water volume, CPC collector surface). Water disinfection might be achieved using a higher load of Ru photosensitizer, a larger area of photocatalytic material and/or longer exposure times. Actually, recent tests in sub-tropical places (data not shown) have demonstrated

¹⁷⁶ Fernández, P., Blanco, J., Sichel, C., Malato, S. “Water Disinfection by Solar Photocatalysis Using Compound Parabolic Collectors”, *Catal. Today*, **2005**, *101*, 345–352.

efficient disinfection of polluted natural spring and well waters with a similar sun-powered CPC photoreactor after 1-day treatment with the 2 g m^{-2} silicone-supported photosensitizer catalyst. At this loading level, the latter adds 15 € to the cost of the reactor system, just 2–3 times the cost of the TiO_2 catalyst used in the (experimental) photosolar devices discussed above. Further experiments in rural locations of different countries in Europe, Northern Africa and the Americas are currently being performed in order to test the applicability of the novel photocatalytic device to drinking water disinfection. Other factors such as bacteria type, growth phase, water pH, turbidity, presence of ions or other pollutants might dramatically affect the results.

Acknowledgements. The authors would like to thank the European Union (ICA4-CT-2002-10001, “SOLWATER”, and ICA3-CT-2002-10028, “AQUACAT”) for supporting this project, M. Collares and J. Correia (AoSol) for the smart CPC prototypes and M. Vincent (Ecosystem Environmental Services, Barcelona, Spain) for helpful advice in the fabrication of the pilot photoreactors. Our gratitude to S. Enriquez and J. Montero from the Spanish National Institute for Meteorology (INM-MMA) for advise and for providing solar radiation data. Finally, we thank Dr. M. E. Jiménez-Hernández, M. L. Contreras and Y. Almonacid for their collaboration in some experiments and helpful comments.

(C) Environ. Sci. Technol., 2008, 42, 301-307.¹³⁹

ON THE FACTORS INFLUENCING THE PERFORMANCE OF SOLAR REACTORS FOR WATER DISINFECTION WITH PHOTOSENSITIZED SINGLET OXYGEN.

Francisco Manjón, Laura Villén, David García-Fresnadillo and Guillermo Orellana*

Laboratory of Applied Photochemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain.

ABSTRACT.

Two solar reactors based on compound parabolic collectors (CPC) were optimized for water disinfection by photosensitized singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) production in heterogeneous phase. Sensitizing materials containing Ru(II) complexes immobilized on porous silicone were produced, photochemically characterized and successfully tested for inactivation of up to 10^{-4} CFU mL^{-1} of waterborne *Escherichia coli* (gram-negative) or *Enterococcus faecalis* (gram-positive). The main factors determining the performance of the solar reactors are the type of photosensitizing material, the sensitizer loading, the CPC collector geometry (fin- vs. coaxial-type), the fluid rheology and the balance between concurrent photothermal-photolytic and $^1\text{O}_2$ effects on the microorganisms inactivation. In this way, at the 40° N latitude of Spain, water can be disinfected in a sunny day ($0.6\text{--}0.8$ $\text{MJ m}^{-2} \text{L}^{-1}$ accumulated solar radiation dose in the 360–700 nm range, typically 5–6 h of sunlight) with CPC-based reactors containing 0.6 m^2 of photosensitizing material saturated with tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) (*ca.* 2.0 g m^{-2}). The optimum rheological conditions require laminar-to-transitional water flow in both prototypes. The fin-type system showed better inactivation efficiency than the coaxial reactor due to a more important photolytic contribution. The durability of the sensitizing materials was tested and the operational lifetime of the photocatalyst is at least three months without any reduction in the bacteria inactivation efficiency. Solar water disinfection with $^1\text{O}_2$ -generating films is demonstrated to be an effective technique for using in isolated regions of developing countries with high yearly average sunshine.

* Corresponding author: orellana@quim.ucm.es

Mailing address: Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain.

Phone: 34-91-3944220. Fax: 34-91-3944103.

Keywords: *Solar Reactor, Compound Parabolic Collector, Bacteria Inactivation, Water Disinfection, Photocatalyst, Singlet Oxygen, Sensitization, Ruthenium Complexes.*

1. INTRODUCTION.

Water is a primary need for the human being. Availability of drinking water is a critical problem for an important part of the world population mainly located in the third world countries where over 1 billion people suffer diseases related to waterborne microorganisms.⁷ Classical water disinfection techniques such as chlorination, and less common alternatives based on other oxidizing reagents (ozone, chlorine dioxide, etc.) or physical treatments (membrane filtration or UV-C illumination), are typically used in urban or industrial areas.^{148,177} However, they are difficult to apply in isolated regions, especially those in poorer countries, due to the lack of infrastructures.

The so-called solar disinfection (SODIS) method¹⁴⁹ is a cheaper alternative to obtain pathogen-free water in those countries placed in the solar radiation belt. Such water disinfection method uses the combined effect of the UV-A component of sunlight plus the infrared-powered temperature increase to inactivate bacteria. However, the technique requires plastic bottles (1–2.5 L) limiting the total amount of water treated per day, is not equally effective with all types of bacteria or turbid waters (NTU > 30) and requires appropriate weather conditions.

Reactive oxygen species (ROS) such as the hydroxyl radical (HO^\bullet), singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) or superoxide anion ($\text{O}_2^{\bullet-}$), are powerful oxidants able to react with most organic molecules and, consequently, to damage microorganisms. Therefore, the use of ROS is a promising alternative for water disinfection.^{142,178} These oxidizing species can be readily generated in water from dissolved oxygen by homogeneous or heterogeneous photocatalysis and sunlight, without the need for additional chemicals other than the light-absorbing catalyst. In the case of a homogeneous process, an additional step involving photocatalyst removal is required while if supported dyes are used this is an unnecessary process.¹⁷⁸

Hydroxyl radicals, commonly photogenerated using titanium dioxide (TiO_2) and UV-A radiation, have been employed in water disinfection and decontamination processes.^{114,176,179,180,181,182,183} Singlet oxygen, $^1\text{O}_2(^1\Delta_g)$, the lowest electronic excited

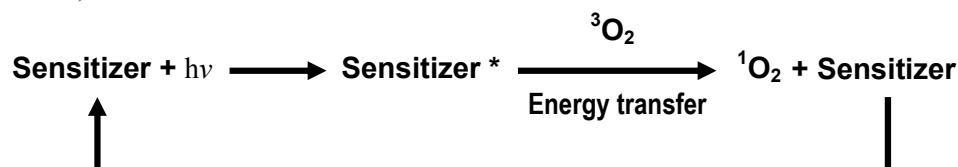
¹⁷⁷ Hrubec, J. “*Quality of Drinking Water*”, Vol. 2, **1998**, Springer, Berlin.

¹⁷⁸ Larson, R. A., Weber, E. J. “*Reaction Mechanisms in Environmental Organic Chemistry*”, **1994**, CRC Press, Boca-Raton, Florida.

¹⁷⁹ Wiszniowski, J., Robert, D., Surmacz-Gorska, J., Miksch, K., Malato, S., Weber, J. V. “*Solar Photocatalytic Degradation of Humic Acids as a Model of Organic Compounds of Landfill Leachate in Pilot Plant Experiments: Influence of Inorganic Salts*”, Appl. Catal. B: Environ., **2004**, 53, 127–137.

¹⁸⁰ Guillard, C., Disdier, J., Monnet, C., Dussaud, J., Malato, S., Blanco, J., Maldonado, M. I., Herrmann, J. M. “*Solar Efficiency of a New Deposited Titania Photocatalyst: Chlorophenol, Pesticide and Dye Removal Applications*”, Appl. Catal. B: Environ., **2003**, 46, 319–332.

state of molecular oxygen, might be promising in photodisinfection processes since all known types of microorganisms undergo $^1\text{O}_2$ -induced damage in their membrane lipids, proteins or genes.¹⁸⁴ $^1\text{O}_2$ generation by photosensitization can be performed at laboratory and industrial scale. This process requires a sensitizer dye that, upon the absorption of light, transfers the energy excess of the excited state to O_2 , yielding $^1\text{O}_2$ (Scheme 1).⁵⁴



Scheme 1.

$^1\text{O}_2$ sensitizers such as methylene blue, rose bengal or porphyrins have shown remarkable disinfection efficiency in homogenous media.^{143,145} However, they have mainly been applied in the environmental field to photooxidation of water-borne polluting dyes,^{94,185} rather than to drinking water disinfection.^{137,186} Compared to the hydroxyl radical, singlet oxygen displays advantages when used for water disinfection: (i) $^1\text{O}_2$ is a more selective oxidant; (ii) 1–2 orders of magnitude lower sensitizer loadings are required than supported TiO_2 , which makes costs comparable, (iii) photogeneration of HO^\bullet with TiO_2 requires UV–A radiation, while $^1\text{O}_2$ can be produced with both UV and Vis light, making better use of the solar spectrum.^{77,114,176,181,182,183,186}

Ru(II) coordination complexes display a number of advantages over purely organic sensitizers, such as their broad and strong absorption band in the visible ($\epsilon_{\text{max}} > 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), intersystem crossing quantum yields close to unity, long excited state lifetimes (in the μs range), significant $^1\text{O}_2$ production quantum yields (0.2–1.0 in solution), good thermal and photochemical stability and the possibility of immobilizing them on a suitable substrate by adequate selection and/or functionalization of their ligands.^{73,74,98,100,137,146}

¹⁸¹ Salih, F. M. “Enhancement of Solar Inactivation of *Escherichia coli* by Titanium Dioxide Photocatalytic Oxidation”, *J. Appl. Microbiol.*, **2002**, 92, 920–926.

¹⁸² Rincón, A. G., Pulgarin, C. “Photocatalytic Inactivation of *E. coli*: Effect of (Continuous-Intermittent) Light Intensity and of (Suspended-Fixed) TiO_2 Concentration” *Appl. Catal. B.: Environ.*, **2003**, 44, 263–284.

¹⁸³ Watts, R. J., Kong, S., Orr, M. P., Miller, G. C., Henry, B. E. “Photocatalytic Inactivation of Coliform Bacteria and Viruses in Secondary Wastewater Effluent”, *Wat. Res.*, **1995**, 29, 95–100.

¹⁸⁴ Hamblin, M. R., Hasan, T. “Photodynamic Therapy: A new Antimicrobial Approach to Infectious Disease”, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2004**, 3, 436–450.

¹⁸⁵ Karapire, C., Kus, M., Turkmen, G., Trevithick-Sutton, C. C., Foote, C. S., Icli, S. “Photooxidation Studies with Perylenediimides in Solution, PVC and Sol-Gel Thin Films under Concentrated Sun Light”, *Solar Energy*, **2005**, 78, 5–17.

¹⁸⁶ Yokoi, H., Shiragami, T., Hirose, J., Kawauchi, T., Hinoue, K., Fueda, Y., Nobuhara, K., Akazaki, I., Yasuda, M. “Bactericidal Effect of a Silica Gel-Supported Porphyrinatoantimony(V) Complex under Visible Light Irradiation”, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **2003**, 19, 559–563.

Design of solar reactors for water disinfection based on heterogenous photocatalysis relies on solar thermal collectors adapted to carry out a photochemical process.¹¹⁴ In this regard, compound parabolic collectors (CPC) have proved to be an optimal choice for photochemical applications, as these devices offer some of the advantages displayed by parabolic trough collectors (PTC) and those of non-concentrating reactors.^{112,113,114} PTC technology focuses sunlight but requires a tracking system to maximize the direct incident radiation, while non-concentrating reactors use static flat plates with a suitable tilt but do not take advantage of the global daily solar irradiation. However, tilted static CPC collectors, typically used in thermal applications such as solar water heating or solar desalination of water,¹¹¹ allow collection of all the global incident sunlight thanks to a reflective surface optimized under the principles of non-imaging optics.

In this paper we have identified the role played by different parameters influencing water photodisinfection with $^1\text{O}_2$ generated by sunlight using two different sensitizing materials and two prototypes of CPC-based reactors.

2. EXPERIMENTAL.

2.1. Materials and instrumentation.

Preparation of the sensitizing dyes. The selected $^1\text{O}_2$ photosensitizers were [tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II)] dichloride and [tris(4,4'-diphenyl-2,2'-bipyridine)ruthenium(II)] dihexafluorophosphate, abbreviated RDP^{2+} and RDB^{2+} , respectively. RDP^{2+} was prepared from the appropriate commercial chelating ligand and RuCl_3 hydrate according to an established procedure.⁷³ RDB^{2+} dye was synthesized by refluxing 5.0 g (16.2 mmol) of 4,4'-diphenyl-(2,2'-bipyridine) (GFS Chemicals, OH) and 1.4 g (5.2 mmol) of ruthenium trichloride trihydrate (Alfa-Aesar, Germany) in 50 mL of ethylene glycol (99%, Aldrich, WI) for 4 h under argon. The crude was analyzed by TLC (silica gel, $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ 1:1 v/v) and formation of the corresponding bis- and tris-chelate complexes was detected. The dark precipitate was removed by filtration and 1 mL of saturated NH_4PF_6 solution was added to the crude filtrate. The resulting reddish-orange solid was column chromatographed (silica gel, 40–63 μm , Merck, Germany) firstly using MeOH as eluant to remove some remaining dichlorobis-chelate complex and then with a mixture of $\text{EtOH}/\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ (3:2:1 v/v). After solvent rotavaporation and vacuum drying over P_2O_5 overnight (0.1 mbar), 1.33 g of tris[4,4'-diphenyl-(2,2'-bipyridine)]ruthenium(II) dihexafluorophosphate were obtained (19% yield).

Preparation of silicone strips with photosensitizer. RDP^{2+} and RDB^{2+} were immobilized by hydrophobic interactions onto porous poly(dimethylsiloxane) films (CulturSil, Cellaon, Luxembourg). This material, abbreviated as pSil, consists of a single-sided 0.5-mm thick porous silicone layer onto a 1500 x 35 x 1 mm strip of non-porous silicone. The pSil strips were dyed following a reported procedure from RDP^{2+}

stock solutions (3×10^{-5} , 1.3×10^{-4} and 7.0×10^{-4} M, in 1:9 v/v MeOH–water).¹³⁸ Photosensitizing materials with 0.85, 1.97 and 2.0 g m^{-2} ($\pm 10\%$) loading, respectively, were obtained thereof as deduced from spectrophotometric analysis of the supernatants plus washouts.¹³⁸ For the immobilization of the RDB^{2+} sensitizer, ten pSil strips were conditioned by boiling for 2 h in purified water (Millipore Milli-Q, MA) and then dip in a solution of 1.17 g of RDB^{2+} dihexafluorophosphate in 3.4 L of a methanol–water mixture (2:8 v/v) and heated for 19 h under reflux. The resulting dyed strips were washed six times under reflux for 3 h with 3.4 L (each) of water to remove the weakly adsorbed photosensitizer molecules. The resulting material contains $(1.5 \pm 0.3) \text{ g m}^{-2}$ of RDB^{2+} . The dyed films are kept with the resulting moisture in zip-lock plastic bags until used.

Structural characterization of RDB^{2+} . Electrospray ionization (ESI) mass spectra were obtained with a Bruker Esquire–LC apparatus (Germany) using 3500 V as ionization voltage, N_2 as nebulizer gas and methanol as solvent (UCM MS Central Instrumentation Facilities). IR spectra were recorded on a FTIR spectrometer (Shimadzu, Japan) using KBr pellets (Uvasol, Merck). ^1H –NMR and ^{13}C –NMR spectra were recorded at the UCM NMR Central Instrumentation Facilities with a Bruker AC–200 spectrometer (Germany) at 200 MHz for ^1H and 50 MHz for ^{13}C . Elemental analysis was performed with a Perkin-Elmer 2400 CHN analyzer (MA) at the UCM Central Microanalytical Services.

Characterization of the $^1\text{O}_2$ photosensitizing materials. The absorption spectra of sensitizer solutions and dyed pSil samples ($30 \times 9 \times 1.5 \text{ mm}$) were recorded with a Varian Cary 3Bio UV–Vis spectrophotometer (CA). Reflectance measurements were performed with a Guided Wave Model 260 fiber-optic spectrophotometer (CA), using a 7–7 ($500 \mu\text{m}$ –o.d. fused silica light guides) bifurcated bundle that carries the light from and to the spectrometer, through a home-made aluminium holder (UCM Central Machining Facilities) in order to achieve repetitive and reproducible measurements of the diffuse reflectance of the film. Luminescence intensity measurements were performed with a Perkin-Elmer LS–5 spectrofluorometer (MA). Samples consisted of small dyed pSil pieces ($20 \times 10 \times 1.5 \text{ mm}$) immersed in water equilibrated with N_2 (C55, Carburos Metálicos, Spain), O_2 (5.0, Praxair, Spain) or air. A computer operated mass-flow controller (ICP–CSIC, Spain) was used to supply a known gas mixture to the samples. The mixtures were carried from the gas-mixing device to a solvent reservoir via 6–mm (o.d.) nylon pipe and from the reservoir to the measuring cell via 0.8–mm (i.d.) PTFE tubing (Omnifit, NJ). Standard quartz cells (Hellma QS, Germany) equipped with doubly-drilled PTFE caps (gas inlet and outlet) were used. The samples were placed in the diagonal of the cell, excited at 405 nm from the porous side and the emission from the same side was detected at 600 nm. Luminescence spectra were corrected for the scattered light by subtracting the signal recorded using blank pSil strips. Emission lifetimes of the sensitizers were measured with an Edinburgh

Instruments (EI) FL-900 time-correlated single-photon counting (TC-SPC) spectrometer (UK). Excitation of the samples was carried out with a Horiba-Jobin-Yvon NanoLED-07N 405-nm pulsed laser diode (France). Four cut-off filters were used as a set to avoid scattering effects (455, 475, 515 and 550 nm, Lambda Research Optics, CA). The luminescence decay profiles were fit to a sum of 2–4 exponential functions and the preexponentially weighted mean lifetimes, τ_M ($\tau_M = \sum B_i \tau_{Ti} / \sum B_i$, where B_i and τ_{Ti} are the corresponding preexponential factors and lifetime components of the curve fit, respectively) were calculated from the experimental data. The $^1\text{O}_2$ lifetime was determined by detection of its characteristic phosphorescence at 1270 nm with an Edinburgh Instruments LP-900 laser flash photolysis system (UK) equipped with a Nd-YAG laser (Minilite II, Continuum, CA) for excitation at 532 nm (20 mJ per pulse) and a EI-P fast Ge photodiode for the time-resolved detection in the near-infrared.

2.2. Solar reactors.

Two different configurations, namely coaxial- and fin-type, based on CPC technology (AoSol, Portugal, under license of Ecosystem Environmental Services, Spain) were tested. The solar CPC reactors comprise 1500 x 50 mm (46 mm i.d.) borosilicate glass tubes, have 1 m² of collector area each, and differ only in the optimized light collectors (five W-shaped or seven U-shaped section units, respectively, [Figure 45](#)) and in the corresponding geometry of the photosensitizing material support (a 1500 x 32 mm polypropylene coaxial cylinder or a 1500 x 41 x 6 mm rectangular prism, respectively).^{138,187,188} To study water flow effects on bacteria disinfection rates, two different centrifugal pumps were used (PanWorld, Japan, 12-W NH-10PX-H and 100-W NH-50PX-X models, supplying a maximum of 2 and 15 L min⁻¹, respectively). When changes in water flow-rates were required, the recirculating valve to the tank was adjusted to carry out the corresponding experiment. A general layout of the systems is depicted in [Figure 45](#).

¹⁸⁷ Chaves, J., Collares-Pereira, M. “New CPC Solar Collector for Planar Absorbers Immersed in Dielectrics. Application to the Treatment of Contaminated Water”, *J. Sol. Energy. Eng.*, **2007**, 129, 16–21.

¹⁸⁸ Collares-Pereira, M. “Collector Solar de Baixa Concentração, Ideal, do Tipo CPC”, *Port. Patent* 102938, **2005**.

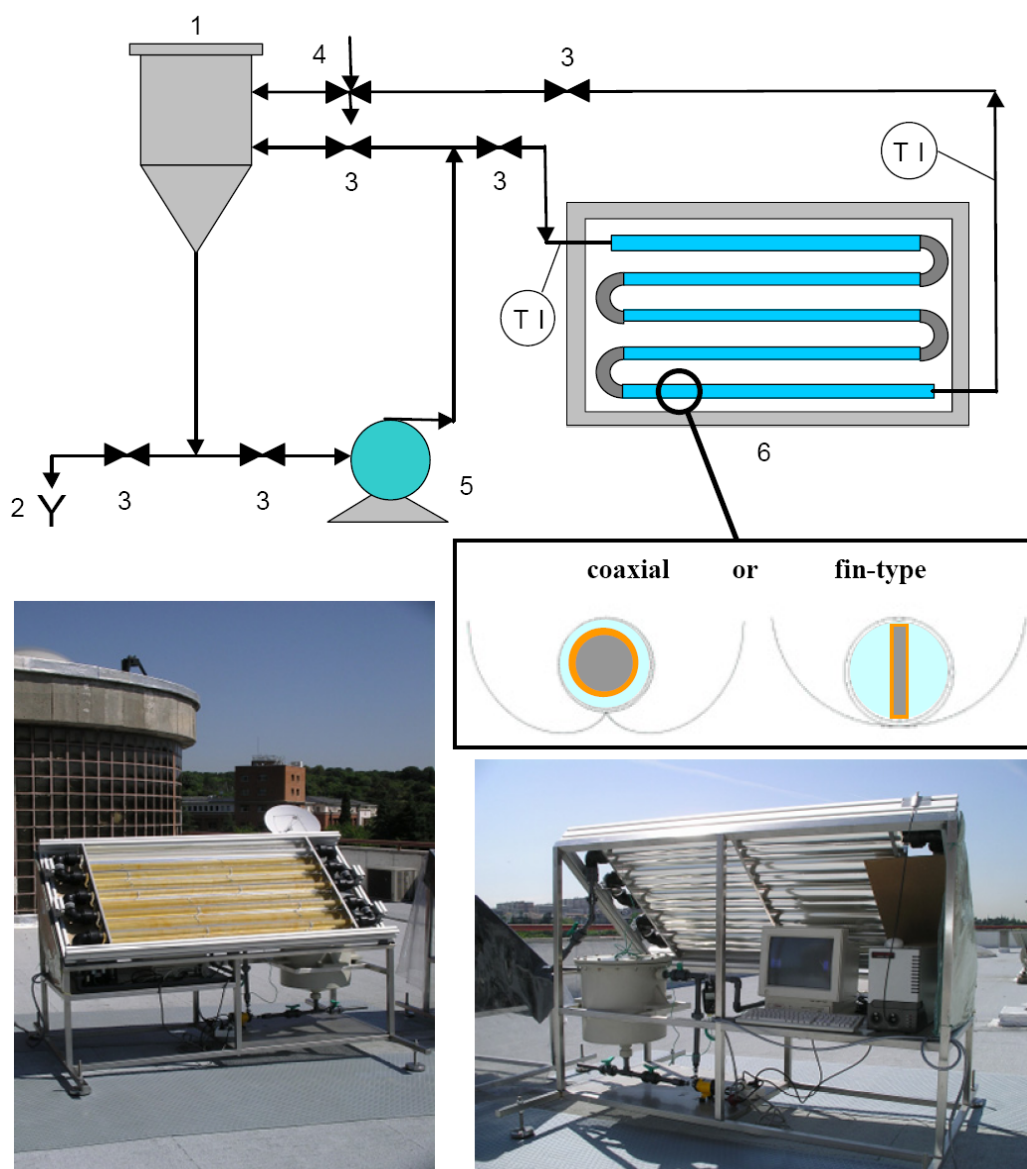


Figure 45. System layout. 1: Tank; 2: Drain; 3: Ball valve; 4: Sampling port; 5: Centrifugal pump; 6: Solar collector corresponding to the coaxial prototype containing five tubes (the fin-type collector contains seven tubes); T I: Temperature measurement and Indicator (thermocouple and data logger). Inset: Cross-section of the coaxial- and fin-type designs of the CPC collectors. Pictures of the front and rear view of the photoreactor prototypes (coaxial-type depicted) installed at UCM are shown at the bottom of the Figure.

2.3. Working conditions.

Taking into account the successful results of the disinfection experiments carried out with a solar-simulated lab-scale photoreactor,¹³⁷ the working conditions were scaled-up to the solar reactors. The following parameters were considered: total water volume to

be treated (V), illuminated area of photosensitizing material (A), water flow-rate (q_v) and incident solar irradiance (E). The values of each one of the selected parameters were as close as possible for both photoreactor prototypes in order to determine the configuration providing the highest microorganism inactivation efficiency.

2.4. Solar disinfection assays.

To compare the bacteria inactivation efficiencies of RDP/pSil and RDB/pSil, preliminary experiments were performed with both materials in the solar-simulated laboratory reactor. The microorganism strains used to evaluate the effect of the photogenerated $^1\text{O}_2$ on the disinfection efficiency were *Escherichia coli* (CECT 4624) and *Enterococcus faecalis* (CECT 5143), two representative types of gram-negative and gram-positive bacteria, respectively. Initial microorganism concentrations of 10^2 and 10^4 CFU mL^{-1} in inoculated mineral water were tested in the CPCs with a typical continuous illumination of 5 h of sunlight exposure per assay. The bacteria culturing, procedures and evaluation of results are similar to those described,¹³⁸ unless stated otherwise. Fresh liquid bacteria cultures were prepared by inoculating an aliquot into Luria-Bertani (LB) broth (Pronadisa, Madrid, Spain) and incubated overnight at 37 °C with constant rocking under aerobic conditions. Aliquots of this culture were inoculated daily into fresh medium and incubated aerobically overnight at 37 °C. Bacterial growth was monitored by recording the absorbance at 600 nm. Microorganisms in their *stationary growth* phase were used for the disinfection testing experiments.

To evaluate the disinfection efficiency, samples of the mineral water inoculated with the selected bacteria or after treatment for a certain period of time in the solar reactor were plated on LB broth agar and incubated at 37 °C for 20 h before (manual) colony counting. Serial dilutions of the samples were carried out when necessary. In order to minimize quantification errors, samples from those tests with an initial bacteria level of 10^4 CFU mL^{-1} were plated 16 times on a Petri dish with an inoculation volume of 10 μL each. Error bars were statistically determined from the data of 32 replicates (two dishes), at 95% confidence level. Samples from runs with an initial bacteria concentration of 10^2 CFU mL^{-1} were spread out over the full agar plate. In this case the error bars were statistically determined from the data of 5 replicates, at a 95% confidence level.

2.5. Measurement of the solar radiation dose

The incident radiation reaching the CPCs was determined in parallel to the disinfection assays. The accumulated dose of incident solar radiation at 40° N latitude in the 360–760 nm spectral region was measured using the Guided Wave 260 fiberoptic spectrophotometer in spectroradiometer mode, coupled to a 1-m, 400- μm , fused silica waveguide with a cosine corrector adapter (CC-3 model, Ocean Optics, FL) attached to the distal end of the optical fiber that collects radiation from a 180° solid angle. In this

way data points of the solar irradiation were obtained at 5 nm steps in the working wavelength region. Previous calibration using the ASTM G-173 reference solar spectrum of AM-1 irradiance at 37° N latitude (sufficiently close to our latitude) was required.¹³¹ With this information, the total incident irradiance (W m^{-2}) in the 360–700 nm interval is determined by integration and, collecting measurements every 10 min along the 5 h of each disinfection assay, it is possible to obtain the accumulated incident light dose (J m^{-2}) by integration along the total duration of each assay. The accumulated radiation data were found to be in agreement with those obtained with a Kipp & Zonen pyranometer (CM11 model, Canada) placed on the solar collector frame and were also confirmed with the solar radiation data (45° tilt) provided by the Spanish National Institute of Meteorology, the measurement equipment of which is located a hundred meters away from our prototypes. In all cases, the estimated radiation values have less than 10% of uncertainty.¹⁸⁹

2.6. Operational $^1\text{O}_2$ production quantum yield ($\Phi_{\Delta\text{op}}$).

This parameter was estimated by chemical scavenging of the singlet oxygen photogenerated by the sensitizing material immersed in water. The scavenger was 1×10^{-2} M imidazole (99%, Aldrich) in the presence of 5×10^{-5} M *N,N*-dimethyl-*p*-nitrosoaniline (97%, Aldrich, WI) in pH = 7 phosphate buffer, and the quantum yield was determined following the *N,N*-dimethyl-*p*-nitrosoaniline absorption bleaching at 440 nm ($\epsilon_{440} = 29000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), as described by Verlhac *et al.*¹⁹⁰ The trapping reaction was carried out by triplicate in a glass vial with 7 mL of stirred scavenging solution, where a piece of the sensitizing material (27 x 8 x 1.5 mm) was placed with its porous side facing the incident light beam produced by a 150-W Xe lamp (Oriel, CT), standing 10 cm away from the sample holder.¹³⁷ The absorbance changes at 440 nm were followed with the spectrophotometer described above. A glass vial containing the same scavenging solution and a piece of blank pSil was used to correct for the nitrosoaniline adsorption onto the polymer support and for the dye photobleaching of the scavenging solution upon irradiation. The number of incident photons (360–700 nm) per unit of time on the photosensitizing material was determined with the Guided Wave 260 spectrometer by placing the cosine corrector in the same position of the sensitizing material, using a drilled vial containing the same scavenging solution. The absorption spectra of the dyed pSil strips were determined with the UV-Vis spectrophotometer using a piece of blank strip at the reference position.

¹⁸⁹ Iqbal, M. “*An Introduction to Solar Radiation*”, 1983, Academic Press, Ontario.

¹⁹⁰ Verlhac, J. B., Gaudemer, A., Kraljic, I. “*Water-Soluble Porphyrins and Metalloporphyrins as Photosensitizers in Aerated Aqueous Solutions. I. Detection and Determination of Quantum Yield of Formation of Singlet Oxygen*”, *Nouv. J. Chim.*, 1984, 8, 401–406.

2.7. Durability of the polymer-supported Ru(II) photosensitizers.

Pieces of the photocatalytic materials were periodically cut out from the solar reactors in order to evaluate their ageing due to sunlight illumination. Emission lifetimes, reflectance and emission spectra were measured on those materials at different irradiation intervals as described in [Section 2.1](#).

3. RESULTS.

3.1. Characterization of the photosensitizing materials.

Structural characterization of RDB²⁺. ESI-MS m/z (%): 513.5 (100, M^{2+}). IR (v/cm^{-1}): 1614, 1411, 764. NMR (CD_3COCD_3 , 99.9% D, Cambridge Isotope Laboratories, MA) ^1H , δ/ppm : 9.5 (m, 4H: H2, H2', H5, H5'), 8.3 (m, 2H: H3 and H3'), 7.76 (m, 10H: H phenyl rings); ^{13}C , δ/ppm : 158.8, 152.8, 150.5, 136.6, 131.4, 130.3, 128.3, 126.0, 123.0. Anal. Calcd. for $\text{C}_{66}\text{H}_{48}\text{F}_{12}\text{N}_6\text{P}_2\text{Ru} \times 2 \text{H}_2\text{O}$, C: 60,23, H: 3,68, N: 6,39. Found, C: 58,50, H: 3,98, N: 5,94. UV-Vis (MeOH/ H_2O 20:80 v/v).

Absorption maxima in the visible region of the RDP^{2+} and RDB^{2+} sensitizers immobilized in pSil are (455 ± 3) and (477 ± 2) nm, respectively. These maxima are slightly blue-shifted compared to those observed in H_2O -MeOH solution (461 and 481 nm for RDP^{2+} and RDB^{2+} , respectively). The corresponding emission maxima of the photosensitizing materials are found at (623 ± 3) and (621 ± 3) nm, respectively. The normalized absorption, reflectance and emission spectra of RDP/pSil in the visible are shown in [Figure 46](#).

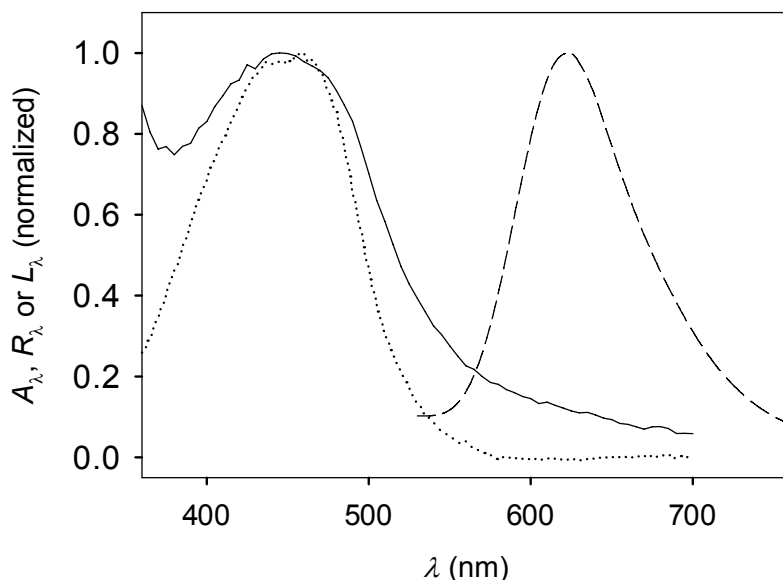


Figure 46. Normalized absorption A_λ (—), reflectance R_λ (····) and emission L_λ (——) spectra of RDP/pSil photosensitizing material.

Table 10 summarizes the preexponentially weighted luminescence lifetimes of the photosensitizing materials in N_2 -purged or air-equilibrated water, the probability of sensitizer excited state quenching by oxygen under air-equilibrated conditions ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$), the measured $^1\text{O}_2$ emission lifetime and the operational $^1\text{O}_2$ production quantum yield.

Table 10. Photophysical characterization of the photosensitizing materials.

Material	$\tau_{\text{M}_0}^a / \mu\text{s}$	$\tau_{\text{M}}^{a,b} / \mu\text{s}$	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}}(\tau_{\text{M}})^{b,c}$	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}}(I)^{b,d}$	$\tau_{\Delta}^e / \mu\text{s}$	$\Phi_{\Delta\text{op}}^f$
RDP/pSil	3.1	0.48	0.84 ± 0.02	0.85 ± 0.07	40	2.0×10^{-3}
RDB/pSil	0.75	0.27	0.64 ± 0.04	0.56 ± 0.06	35	0.8×10^{-3}

^a Uncertainty: $\pm 10\%$.

^b Air-equilibrated water.

^c From time-resolved emission measurements.

^d From steady-state emission measurements.

^e Uncertainty: $\pm 15\%$.

^f Uncertainty: $\pm 25\%$

A typical time-drive experiment to determine $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$ for the RDP/pSil material from steady-state emission measurements is shown in Figure 47.

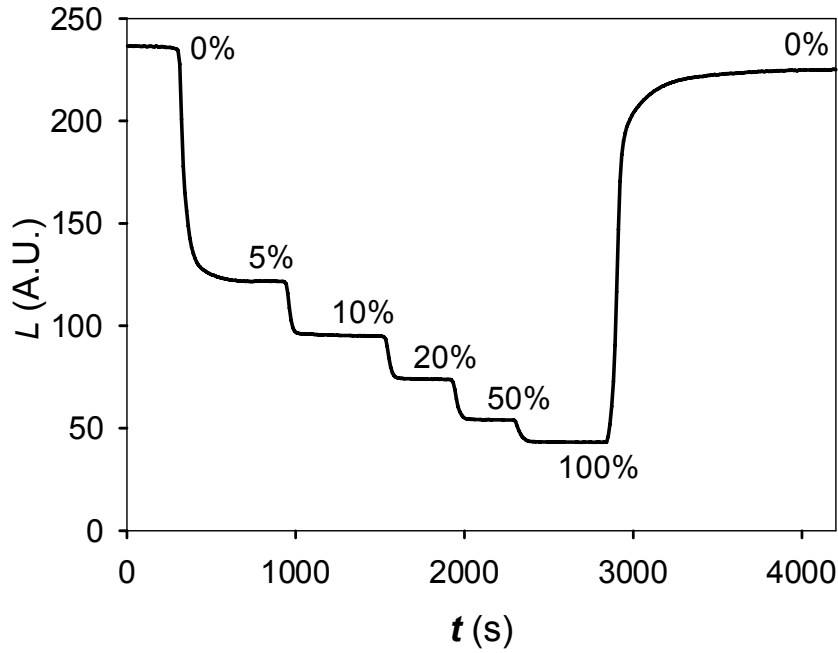


Figure 47. Variation of the RDP/pSil emission intensity L_{λ} with the $\%\text{O}_2$ in the gas mixture fed into the water in contact with the photosensitizing material at 25°C .

The observed emission kinetics of the supported photosensitizer in the presence and in the absence of O_2 is complex, so that a sum of 2–3 exponentials was used to fit the experimental profile (Figure 48 depicts a typical luminescence decay trace of the polymer-supported RDP^{2+} sensitizer).

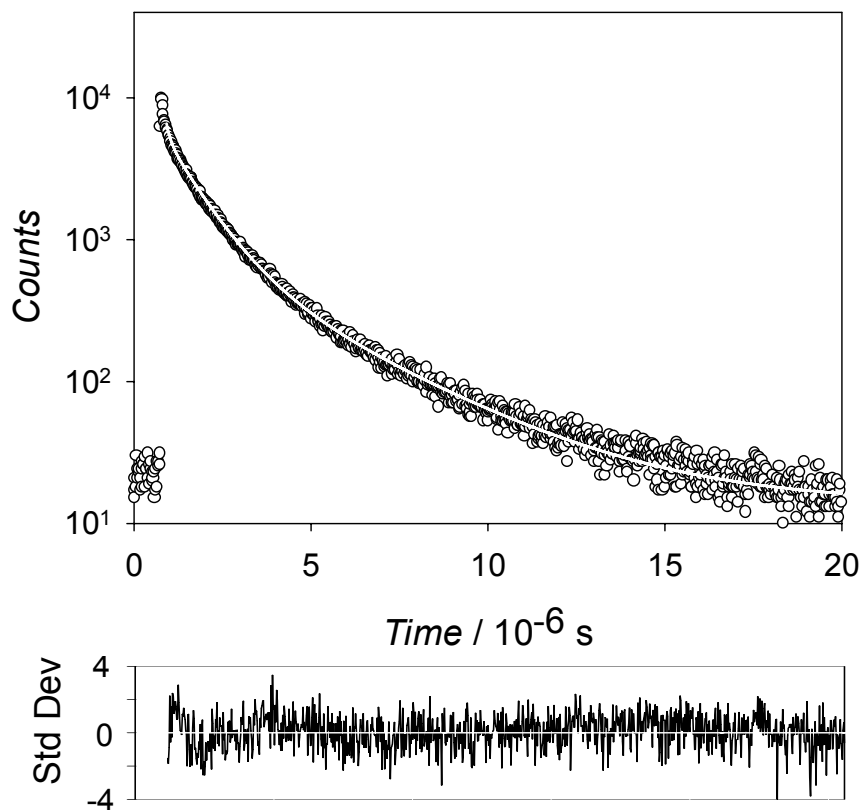


Figure 48. Luminescence kinetic profile of the immobilized RDP/pSil under air-equilibrated water at 25 °C.

Production of $^1\text{O}_2$ by the immobilized photosensitizers has been evidenced by its characteristic NIR luminescence centered at 1270 nm.⁵⁴ Figure 49 displays the emission decay of singlet oxygen photogenerated by RDP/pSil.

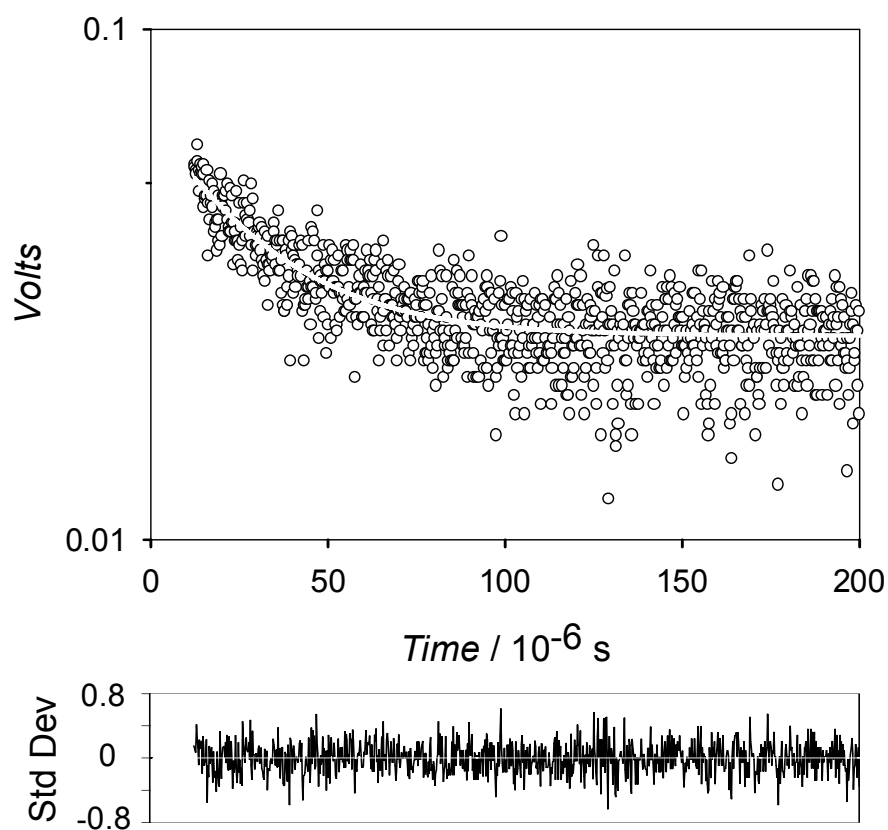


Figure 49. Emission kinetic profile of singlet oxygen photogenerated with moisted RDP/pSil material under air at 25 °C.

3.2. Disinfection assays.

Preliminary inactivation experiments with a lab-scale reactor and both types of photocatalysts are depicted in [Figure 50](#).

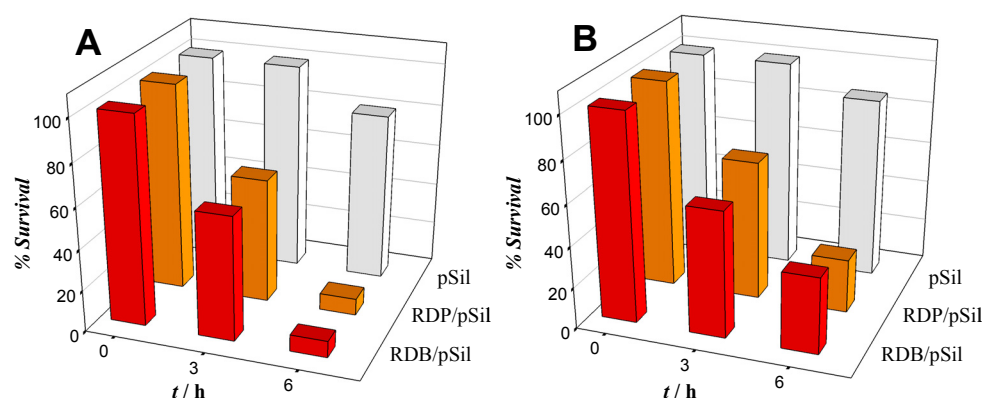


Figure 50. Photoinactivation of (A) *E. faecalis* and (B) *E. coli* (ca. 2×10^3 CFU mL⁻¹ initial concentration) in the lab-scale reactor using RDB/pSil, RDP/pSil and pSil at room temperature.

Based on these results, we carried out inactivation tests with our two solar reactor prototypes. In order to select the rheological conditions in the reactors, *E. coli* disinfection tests were performed at different water flow rates with the coaxial prototype (Figure 51A), and also with the two photoreactors under different flow rates but the same rheological conditions (Figure 51B).

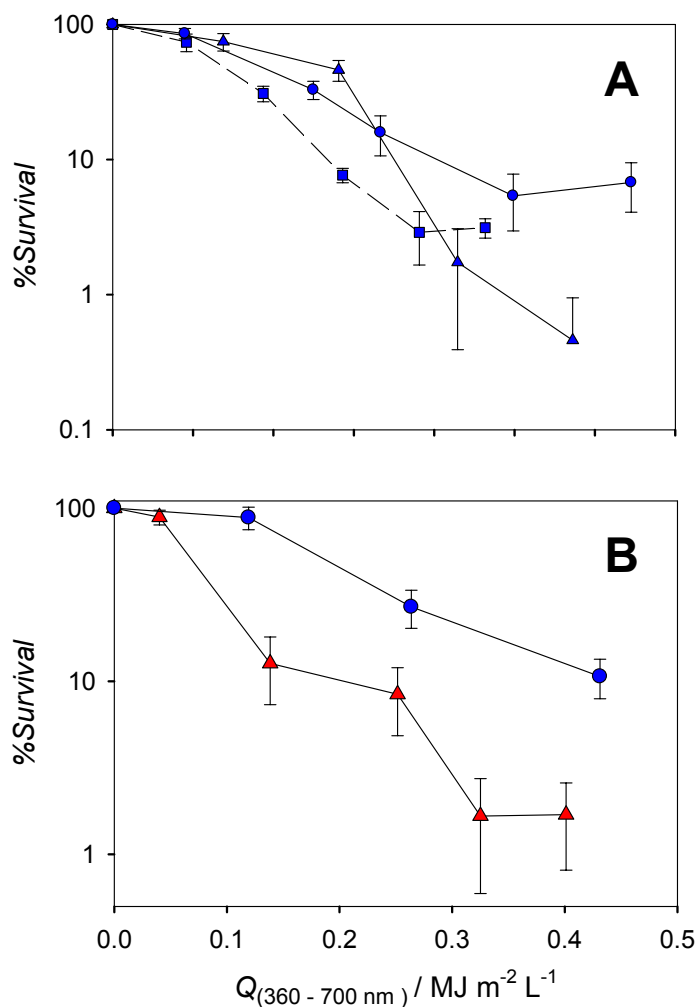


Figure 51. Influence of rheology on 10^4 CFU mL^{-1} *E. coli* inactivation in the solar reactors. (A) Effect of the water flow-rate in the coaxial prototype with the accumulated radiation dose (Q): 0.25 L min^{-1} (●), 2 L min^{-1} (▲) and 15 L min^{-1} (■). (B) Inactivation under the same rheological conditions: coaxial- (●, 1.1 L min^{-1}) and fin-type (▲, 2 L min^{-1}).

Subsequent inactivation assays with *E. faecalis* at initial concentrations of 10^2 and 10^4 CFU mL^{-1} using RDP/pSil were also run to compare both prototypes from the viewpoint of inactivation efficiency (Figure 52).

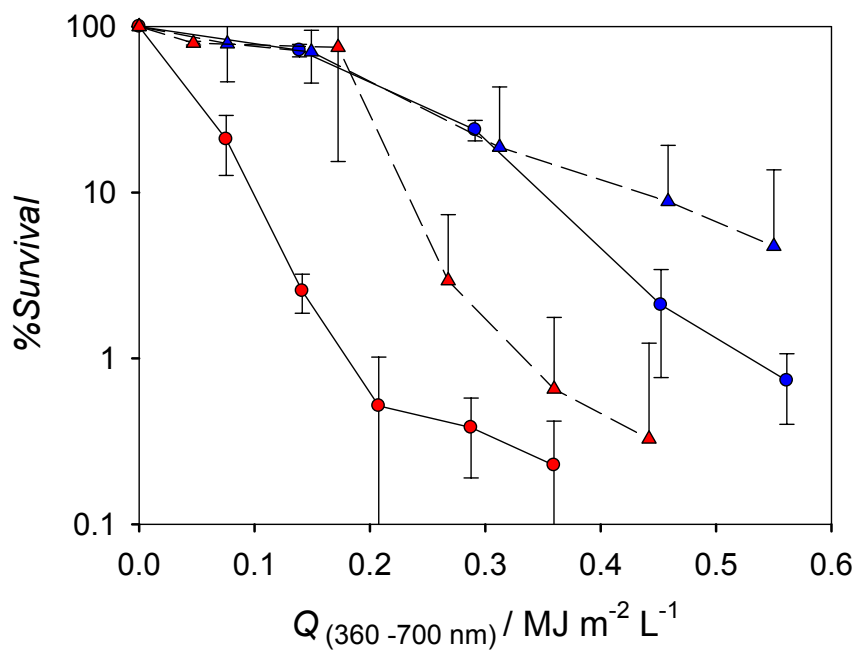


Figure 52. Inactivation of 10² (triangles, dashed lines) and 10⁴ CFU mL⁻¹ (circles, solid lines) *E. faecalis* with RDP/pSil in the coaxial- (blue symbols) and fin-type (red symbols) prototypes; flow-rate: 2 L min⁻¹.

As control experiments, the evolution of *E. coli* and *E. faecalis* concentration at the two initial levels tested (10² and 10⁴ CFU mL⁻¹) using undyed pSil strips under sunlight are depicted in [Figures 53A](#) and [53B](#), respectively.

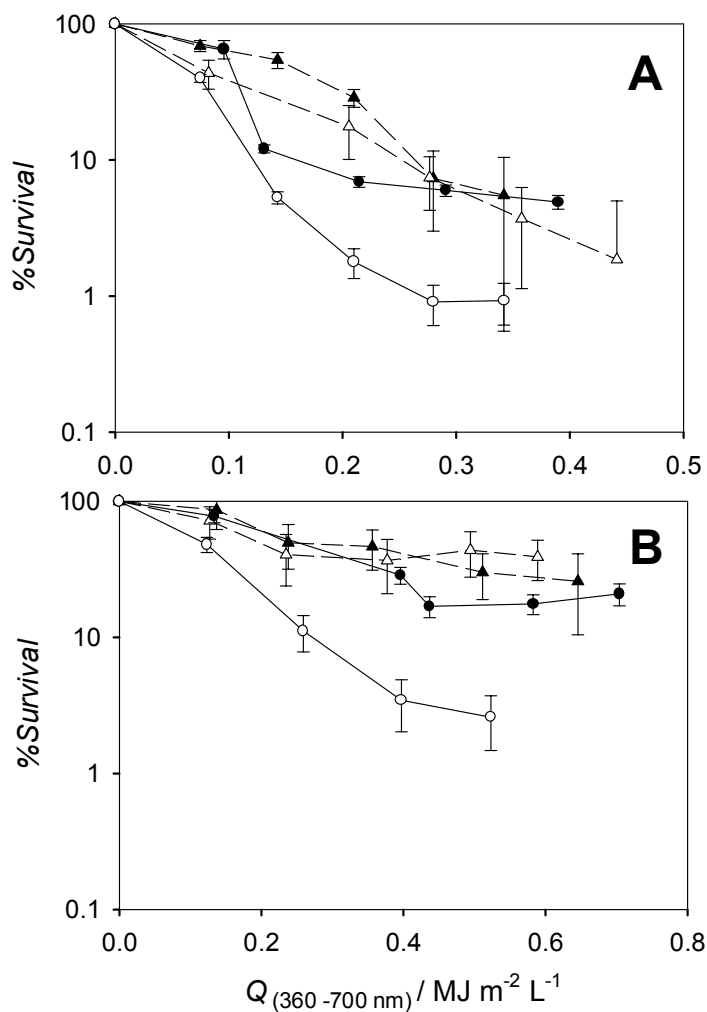


Figure 53. Bacteria inactivation with blank pSil strips with the prototypes: fin-type (A), coaxial reactor (B). Initial concentrations: 10^2 CFU mL⁻¹ (triangles, dashed lines) and 10^4 CFU mL⁻¹ (circles, solid lines) of *E. faecalis* (open symbols) and *E. coli* (black symbols); flow-rate: 2 L min⁻¹.

3.3. Durability of the photosensitizing material.

Changes in the absorption, reflectance and emission of light of the photosensitizing materials were observed as a consequence of the solar disinfection assays. No changes were observed in their $P\text{O}_2^T$ and emission lifetime of the immobilized dye. However, the normalized emission intensity decreased with the accumulated radiation dose (Figure 54). A hypsochromic shift in the reflectance of the RDP/pSil material was also detected, although efficient microorganism inactivation was observed until the last disinfection assay performed, without noticeable changes in the bacteria inactivation kinetics.

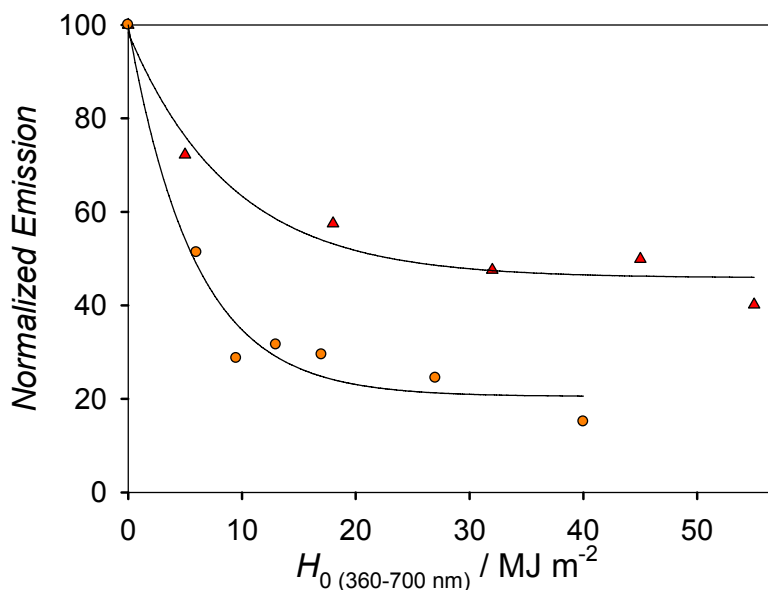


Figure 54. Variation of the normalized emission intensity with the accumulated fluence for the RDP/pSil (●) and the RDB/pSil (▲) materials. The solid lines represent the best fit of the experimental data to a $y = y_0 + a \exp(-bx)$ function ($r^2 > 0.95$).

4. DISCUSSION.

To rationalize the discussion, we have divided this section in two parts, namely the photosensitizing materials themselves and the working parameters influencing the water disinfection efficiency of the solar reactors.

4.1. Photosensitizing material-related parameters.

a) *Sensitizer nature.* Typical organic $^1\text{O}_2$ sensitizers such as rose bengal or methylene blue and (metallo)porphyrins have demonstrated good water disinfection efficiency in homogenous phase. However, with these sensitizers, photobleaching occurs quickly (around 100% of the sensitizer is degraded after 2 h under sunlight)^{143,145} so that photostability must be investigated.

Ru(II) complexes with polyazaheterocyclic chelating ligands strongly absorb in the 400–550 nm region and, when the ligands bear phenyl substituents, they become efficient $^1\text{O}_2$ photosensitizers.⁷³ In particular, those synthesized from 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline, such as RDP²⁺, display high $^1\text{O}_2$ production quantum yields (0.97 and 0.42 in MeOH and in water, respectively).⁷³ Moreover, ligand photodechelation has been demonstrated to be a very inefficient process in Ru(II) polypyridyls, with a

quantum yield of 3×10^{-4} .¹⁹¹ Photodechelation does not necessarily lead to degradation, particularly in rigid ligands such as 1,10-phenanthroline (phen).

Photodegradation of Ru(II) dyes in solution and immobilized onto different polymers has been reported and mainly attributed to oxidation by the photogenerated $^1\text{O}_2$.^{192,193,194,195} This process is minimized when the Ru(II) coordination sphere contains 2,2'-bipyridine ligands, due to the lack of the ethylenic bridge of phen derivatives that is mainly responsible for their reactivity with $^1\text{O}_2$.¹⁹⁵ Unfortunately, bipyridine complexes show a higher photosubstitution quantum yield due to the free rotation around the pyridine-pyridine bond once the Ru–N bond breaks down in the triplet (non-luminescent) metal-centered excited state.¹⁹⁶ Ru(II) complexes based on 2,2'-bipyridine derivatives are also fairly good $^1\text{O}_2$ photosensitizers (for instance, $\Phi_{\Delta} = 0.73$ and 0.22 for tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) in MeOH and in water, respectively).⁷³ Therefore we selected RDP²⁺ and RDB²⁺ as benchmark sensitizers to test the balance between efficient $^1\text{O}_2$ production and photobleaching.

Since no dissolved sensitizer must be present in the water after the disinfection treatment, it is mandatory for practical purposes to immobilize the dye on an adequate polymer support. Hydrophobic Ru(II) complexes can be strongly and reproducibly immobilized by adsorption onto polymer materials such as porous silicone without noticeable leaching ($< 10^{-9}$ M sublethal levels have been measured by photon-counting luminescence measurements).^{137,138}

b) *Polymer support and sensitizer loading.* In a previous work we explored the suitability of several Ru(II) $^1\text{O}_2$ photosensitizers embedded into different polymer supports for microorganism inactivation.¹³⁷ Silicone rubbers display a number of advantages for $^1\text{O}_2$ production namely extremely high oxygen permeability¹²⁶ and the photogenerated $^1\text{O}_2$ exhibits a 10-fold lifetime in these polymers (*ca.* 40 μs) compared to water.¹³⁷ Furthermore, porous silicone is optically translucent, mechanically robust, significantly photostable, chemically inert and the commercially available material we have selected shows excellent interaction with microorganisms.¹⁹⁷ Therefore, different RDP²⁺ loadings on pSil were tested.

¹⁹¹ Porter, G. B., Sparks, R. H. "Photoracemization of $\text{Ru}(\text{bipyridine})_3^{2+}$ ", J. Photochem. **1980**, 13, 123–131.

¹⁹² Adelt, M., Devenney, M., Meyer, T. J., Thompson, D. W., Treadway, J. A. "Ruthenium(II) MLCT Excited States. Stabilization toward Ligand Loss in Rigid Media", Inorg. Chem., **1998**, 37, 2616–2617.

¹⁹³ Hartmann, P., Leiner, M. J. P., Kohlbacher, P. "Photobleaching of a Ruthenium Complex in Polymers Used for Oxygen Optodes and Its Inhibition by Singlet Oxygen Quenchers", Sens. Actuators B, **1998**, 51, 196–202.

¹⁹⁴ Vaidyalingham, A., Dutta, P. K. "Analysis of the Photodecomposition Products of $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ in Various Buffers and Upon Zeolite Encapsulation", Anal. Chem., **2000**, 72, 5219–5224.

¹⁹⁵ Fuller, Z. J., Bare, W. D., Kneas, K. A., Demas, J. N., DeGraff, B. A. "Photostability of Luminescent Ruthenium(II) Complexes in Polymers and in Solution", Anal. Chem., **2003**, 75, 2670–2677.

¹⁹⁶ Durham, B., Caspar, J. V., Nagle, J. K., Meyer, T. J. "Photochemistry of $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ", J. Am. Chem. Soc., **1982**, 104, 4803–4810.

¹⁹⁷ See: www.cellon.lu/cultursil/cultursil.htm

At RDP^{2+} initial concentrations above $1.3 \times 10^{-4} \text{ M}$ in MeOH–water (1:9 v/v), the resulting loading on the porous material is close to its saturation limit (once repeated washings to remove the weakly bound sensitizer were performed). This result is supported by data obtained from loading procedures carried out at different initial concentrations of sensitizer: Preparations from $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ RDP^{2+} yielded a 0.85 g m^{-2} doped material, while $1.3 \times 10^{-4} \text{ M}$ of dye produced a silicone with 1.97 g m^{-2} loading (2.3–fold factor). However, experiments carried out with a sensitizer concentration close to its solubility limit in the MeOH–water mixture ($7.0 \times 10^{-4} \text{ M}$) yielded a 2.0 g m^{-2} loading. This maximum sensitizer load was used throughout for the bacteria inactivation tests, as high dye levels are advantageous if photobleaching occurs. Similarly, saturation of the polymer with *ca.* 1.5 g m^{-2} of RDB^{2+} was achieved using a $2.6 \times 10^{-4} \text{ M}$ stock solution of the sensitizer in MeOH–water (1:4 v/v).

c) *Photochemical parameters of the sensitizing materials.* The probability of oxygen quenching of the photoexcited sensitizer ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$) was determined from steady-state intensity (I) and lifetime (τ_{M}) emission measurements using eq. (f).

Both photocatalysts are efficiently deactivated by O_2 ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$ *ca.* 0.85 and 0.60 for the immobilized RDP^{2+} and RDB^{2+} , respectively, independently of the dye loading, Table 10). However, the quenching probability is higher for the RDP^{2+} sensitizer, according to its longer excited state lifetime (τ_{M0}). Singlet oxygen formation within the silicone has been evidenced from its lifetime (*ca.* $40 \mu\text{s}$) in the wet materials (Figure 49). This value is significantly longer than the $4.4 \mu\text{s}$ measured in water,¹⁹⁸ regardless the sensitizer dye.

We have determined also the *operational* $^1\text{O}_2$ production quantum yield ($\Phi_{\Delta\text{op}}$, namely from the amount of $^1\text{O}_2$ trapped by the scavenging solution where the photosensitizing material is immersed) after making all the necessary corrections for (i) the incident light, (ii) the absorbance of the *N,N*-dimethyl-*p*-nitrosoaniline (RNO) indicator,¹⁹⁰ (iii) the decrease in the RNO concentration due to its photodegradation and adsorption onto the polymer material, and considering that 12 $^1\text{O}_2$ molecules are required for bleaching just one indicator dye molecule.¹⁹⁰ From the operational standpoint (Table 10), RDP/pSil is *ca.* 3–fold more efficient than RDB/pSil . This result can be attributed to the lower $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$ of RDB^{2+} . Therefore, the RDP/pSil system would be the best choice for the photosensitized $^1\text{O}_2$ production (without considering its photostability). The experimental results displayed in Figure 50 show however that both photosensitizing materials behave similarly from the point of view of the bacteria inactivation efficiency. These results might be explained if much more $^1\text{O}_2$ is generated than the actual amount required for the microorganism inactivation.

¹⁹⁸ Shimizu, O., Watanabe, J., Naito, S. “Absolute Quantum Yields and Lifetimes of Photosensitized Phosphorescence of Singlet Oxygen $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ in Air-Saturated Aqueous and Organic Solutions of Phenalenone”, Chem. Lett., **1999**, 67–68.

d) *Endurance of the sensitizing materials.* The effect of the accumulated radiation on the stability to light of the photocatalysts was evaluated from their luminescence intensity. The latter decreased with the radiation dose due to sensitizer photobleaching (Figure 54). Both Ru(II) complexes loaded to saturation on pSil showed a similar behavior: after an initial steep decrease, a plateau was reached at *ca.* 20 MJ m^{-2} (about 15 hours of sunlight exposure or 3 disinfection experiments). The strongest decrease was observed with RDP/pSil (its initial emission is reduced to 20% at 20 MJ m^{-2} , while it decreases to 50% for RDB/pSil at the same accumulated dose), demonstrating the lower photostability of RDP $^{2+}$ because of its structural features discussed above. Nevertheless, equally efficient bacteria inactivation was still observed at the maximal accumulated radiation dose tested so far for the RDP/pSil material (*ca.* 500 MJ m^{-2}). Therefore, we can conclude that both photosensitizing materials display similar bacteria inactivation efficiencies as RDP/pSil has a 3-fold larger Φ_{Δ} but poorer photostability while RDB/pSil exhibits the opposite features. An additional advantage, regardless of the system used and since degradation of the pSil support was never observed, is that the polymer strips could eventually be reloaded with photosensitizer and reused in new water disinfection treatments.

4.2. Reactors and their operational parameters.

a) *Solar collector configuration.* The two different CPCs described in Section 2.2 were designed by the manufacturer to collect all the incident solar radiation by mirrors of optimized geometry according to the receiver shape (cylindrical or rectangular prismatic). However, their identical reflective surface (1 m^2) mandates that the two systems contain a different number of glass tubes (5 in the coaxial- and 7 in the fin-type reactor), so that different areas of photosensitizing material are illuminated. As it is expected that the larger the *illuminated area* of dyed film the more efficient the inactivation of bacteria, the photosensitizer area is an important factor to be considered. Therefore, to be able to compare the performance of the two solar reactors from the point of view of $^1\text{O}_2$ photogeneration, the area of sensitizing material was kept as constant as feasible (*ca.* 0.6 m^2) for both prototypes. This was achieved by using a different number of fully coated inner supports in each reactor (4 tubes in the coaxial- and 5 in the fin-type, which corresponds to *ca.* 0.75 m^2 of the collector area) (Table 11). Taking into account that the different configurations of the coaxial- and fin-type collectors determine different shapes for the photocatalyst framework and, consequently, a different water volume per tube, the *total water volume* is another factor which is difficult to match. The water volume per glass tube of the fin-type configuration is *ca.* 2 L while it is only *ca.* 1 L in the coaxial geometry; consequently, the total water volume in each reactor has to be different (10 L in the coaxial- and 17.5 L in the fin-type).

Table 11. Working parameters (water volume, illuminated area, flow-rate and irradiance) in the water disinfection experiments using RDP/pSil photosensitizing material in the CPC solar reactors.

Reactor	V^a / L	A / m^2	$q_v / \text{L min}^{-1}$	$E^b / \text{W m}^{-2}$
Coaxial-type	10	0.57 ^c	2.0	400
Fin-type	17.5	0.65 ^d	2.0	400
FACTOR ^e	0.57	0.88	1	1

^a Treated volume water per experiment.^b W m^{-2} (360–700 nm).^c 4 tubes (out of 5) with photocatalyst strips, *ca.* 0.8 m^2 of illuminated collector area.^d 5 tubes (out of 7) with photocatalyst strips, *ca.* 0.7 m^2 of illuminated collector area.^e Proportionality factor between the parameters of the coaxial/fin-type reactors.

As it is shown in [Figures 51B](#) and [52](#), the fin-type system always yields faster bacteria inactivation. Therefore, factors other than just the photosensitizer area must determine the efficiency of bacteria inactivation, such as the *rheological regime*, which is directly related to the *water flow*, and the *illuminated water volume per tube*.

The effect of the *rheological regime* (characterized by the Reynolds number, Re) was checked by selecting three different water flow-rates, namely 0.25, 2 and 15 L min^{-1} , corresponding to laminar ($\text{Re} \sim 500$), transitional ($\text{Re} \sim 4,000$) and turbulent conditions ($\text{Re} \sim 30,000$), respectively ([Figure 51A](#)). In spite of a slower initial inactivation rate, the best results were obtained with the intermediate flow, as at lower flow-rates the required number of water cycles for bacteria inactivation would be too large for the limited daily sunlight hours; additionally, the exchange of microorganisms between the photosensitizing material surface (where $^1\text{O}_2$ effect actually occurs) and the aqueous phase is not favored. At higher flow-rates, the contact time between the microorganisms and the polymer surface is lowered.

Taking into account that 2 L min^{-1} provided the best results and to guarantee reproducibility, the pump supplying this maximum flow was finally selected for further disinfection tests with both solar reactors. Such working flow corresponds to a laminar-to-transitional regime in the fin-type reactor ($\text{Re} \sim 2,100$) while it is a transitional regime in the coaxial one ($\text{Re} \sim 4,000$). When the flow conditions were modified to operate both reactors with a similar Re number (2.0 and 1.1 L min^{-1} in the fin- and coaxial-type, respectively, $\text{Re} \sim 2,100$), the fin-based reactor yielded one order of magnitude higher microorganism inactivation than the coaxial prototype for the same accumulated radiation dose (0.4 $\text{MJ m}^{-2} \text{L}^{-1}$, [Figure 51B](#)). If the same flow rate is used in both reactors (2 L min^{-1}), one order of magnitude higher inactivation was also achieved with the fin-type collector for the same solar dose of 0.4 $\text{MJ m}^{-2} \text{L}^{-1}$ ([Figure 52](#)). Therefore, the optimum working conditions for both reactors that allow an efficient interaction between bacteria and the photosensitizing material and consequently the best inactivation results, seem to be laminar-to-transitional rheology.

Once it has been demonstrated that, under comparable rheological conditions, the fin-type reactor displays a better performance, we address whether this difference might be

attributed to the effect of the *illuminated water volume per tube*. Considering that the distinct collector configurations determine different optical pathlengths, direct solar disinfection (photolytic effect) should be considered. The photolytic effect can be evaluated from [Figures 53A](#) and [53B](#) depicting experiments carried out with both reactors operated at the selected working conditions but with blank pSil strips (no $^1\text{O}_2$ production). In the coaxial collector, where the illuminated volume per tube is *ca.* 1 L, a 50% decrease in the survival of initial bacteria is observed except for the highly $^1\text{O}_2$ -sensitive gram-positive *E. faecalis* (a 50-fold decrease has been measured at high initial concentration). On the other hand, the fin-type collector, with *ca.* 2 L of illuminated water per tube, shows a 1–2 *log* decrease regardless the microorganism tested and its initial level. These results confirm that two processes are responsible for the observed bacteria inactivation: the photolytic and $^1\text{O}_2$ effects.

A simple attempt to discern both contributions would require subtracting the effect of the blank from the total inactivation; however the result would not be realistic as the photosensitizing material is orange-colored while the white appearance of the undyed support causes significant diffuse reflection. Therefore, the contribution of the photolytic effect would be overestimated with such an approach. This is confirmed by previous results¹³⁸ where only a 10% inactivation of waterborne bacteria was observed by using just the (grey) inner polypropylene framework that normally holds the photosensitizing strips in place. Although it is difficult to separate both contributions, similar inactivation trends with the photolytic plus $^1\text{O}_2$ ([Figure 52](#)) and the photolytic effect alone ([Figure 53A](#)) are observed on *E. faecalis* with the fin-type reactor. Therefore, the photolytic effect plays an important role but is the effect of $^1\text{O}_2$ on bacteria survival which determines whether disinfection can be reached or not for a particular solar dose. In the case of the coaxial reactor, [Figures 52](#) and [53B](#) do not show the same behavior at different initial bacteria concentrations, suggesting that the photolytic effect is less important than $^1\text{O}_2$ inactivation (see below in [Section c](#)). This fact can be attributed to the smaller illuminated volume in the coaxial collector. The same conclusions can also be drawn for *E. coli*.¹³⁸

Strains from culture collections, rather than from natural environment, were used in our study. While this is probably enough for comparing the performance of the two collector designs and the different photosensitizing materials, it might overestimate the efficiency of the solar reactors for treating natural waters. Enteric bacteria strains from culture collections could be more susceptible to solar inactivation than naturally occurring bacteria, partially due to loss of environmental resistance due to repeated passaging.¹⁹⁹

¹⁹⁹ Fux, C. A., Shirtliff, M., Stoodley, P., Costerton, J. W. “Can Reference Laboratory Strains Mirror ‘Real-World’ Pathogenesis?”, *Trends Microbiol.*, **2005**, *13*, 58–63.

b) *Water temperature effect*. The temperature reached inside the solar collectors during the disinfection tests varied between 25 and 50 °C depending on the insolation. Experiments above 50 °C were discarded to avoid deviations due to heat effects. Control runs in the absence of photosensitizing material or blank polymer showed that the combined effect of sunlight and temperature accounts for *ca.* 10% of *E. faecalis* and *E. coli* inactivation.¹³⁸ No significant differences in the water temperature reached during the treatment were observed between the fin- and the coaxial-type collector configurations (Figure 55).

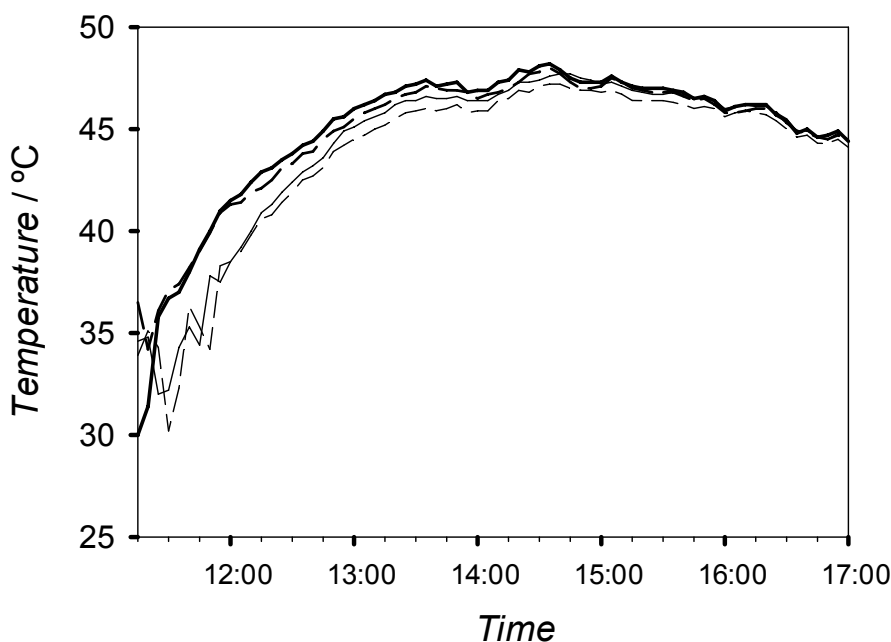


Figure 55. Temperature evolution during a typical experiment of bacterial inactivation carried out by sunlight with both prototypes: coaxial reactor (thick lines), fin-type reactor (thin lines). Inlet (– –) and outlet (—) water temperature.

c) *Operation time*. A time span of *ca.* 5 h for the disinfection experiments was employed. After the solar treatment, the *E. faecalis* survival is always lower than 10% of the initial concentration (Figure 52) and a similar outcome was observed with *E. coli*.¹³⁸ These results may be significantly improved with longer irradiation times and/or in those areas with a higher solar radiation dose than that of our experiments. This operation time is comparable or better to that required by alternative techniques such as SODIS (typically 6 h for disinfection in semi-arid regions)¹⁴⁹ or TiO_2 -supported photocatalysis (approx. 2 h for a 2 log decrease of 10^4 CFU mL^{-1} *E. coli* bacteria).¹⁷⁶ Moreover, the faster inactivation rate of the 10^4 CFU mL^{-1} suspension (Figure 52), particularly evident for the fin-type reactor, may be attributed to the heterogeneous nature of the $^1\text{O}_2$ production together with the short lifetime of such species (*vide supra*). Only the

silicone-bound bacteria will be attacked by $^1\text{O}_2$ and the binding kinetics are strongly dependent on the waterborne microorganism concentration.

d) *Accumulated radiation.* The higher accumulated radiation, the lower bacteria survival (Figures 51–53). With our CPC-based reactors for an accumulated radiation dose in the $0.6\text{--}0.8\text{ MJ m}^{-2}\text{ L}^{-1}$ range (in the 360–700 nm region), complete loss of bacteria culturability is observed with waters containing 10^2 or 10^4 CFU mL^{-1} initial concentrations of *E. coli* or *E. faecalis*. In sunny days at 40° N latitude the mean irradiance is *ca.* 400 W m^{-2} in the 360–700 nm region. Therefore, treatment periods of 5–6 h are equivalent to a total solar dose of *ca.* $1.75\text{ MJ m}^{-2}\text{ L}^{-1}$. In contrast, the UVA-based SODIS process requires *ca.* $5\text{ MJ m}^{-2}\text{ L}^{-1}$ of total solar dose for complete microorganism disinfection (estimated from data available in ref. (149)).

Field tests of the $^1\text{O}_2$ photosensitizing materials containing Ru(II)-polyazaheterocyclic complexes adsorbed on porous silicone have demonstrated to be promising photocatalysts for solar water disinfection treatments in less developed regions of semi-arid countries.⁵³ Cost-effectiveness of the more efficient sensitizer-based treatment *vs.* photolytic sunlight-only systems can be judged from the *ca.* 20 USD price tag of the photoreactive dye per reactor used in our study.

Acknowledgements. The authors thank the European Union INCO grants (ICA4-CT-2002-10001, “SOLWATER” and ICA3-CT-2002-10028, “AQUACAT”) and the Spanish Ministry of Education and Science (grant CTQ2006-15610-C02-01_BQU) for supporting this project, and S. Enriquez and J. Montero from the Spanish National Institute for Meteorology for providing the solar radiation data. We acknowledge collaboration in some experiments of Dr. M. E. Jiménez-Hernández, M. L. Contreras and Y. Almonacid. F. M. thanks Complutense University of Madrid for a doctoral grant.

(D) Photochem. Photobiol. Sci., **2009**, 8, 926–932.¹⁴⁰

WATER DISINFECTION WITH Ru(II) PHOTOSENSITIZERS SUPPORTED ON IONIC POROUS SILICONES.[§]

Francisco Manjón, David García-Fresnadillo and Guillermo Orellana*

Laboratory of Applied Photochemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain.

ABSTRACT.

In this study we report on the preparation, photochemical characterization and evaluation of the photodisinfection power of various new types of singlet oxygen photosensitizing materials prepared from two homoleptic Ru(II) complexes with polyazaheterocyclic ligands (abbreviated RDP²⁺ and RSD⁴⁻) immobilized on anionic and cationic porous silicon polymers (pSi⁻ and pSi⁺, respectively). Time-resolved emission measurements in the UV–Vis–NIR have confirmed high $^1\text{O}_2$ production by these materials in water ($\tau_{\Delta} = 25\text{--}32\ \mu\text{s}$) due to efficient quenching of the long-lived sensitizer triplet state by dissolved O_2 , particularly in those pSi⁻ materials with higher sensitizer load (Po_2^{T} ca. 0.74 and 0.88 for 1.15 and 4.40 g m⁻², abbreviated “M” and “H”, respectively). Photodisinfection tests carried out using both a solar-simulated lab-scale setup and under sunlight have demonstrated the strong bacteria inactivation ability of the RDP/pSi⁻ material with the highest sensitizer load. Results of photochemical experiments with aqueous suspensions of *E. faecalis* at an initial concentration of 10⁴ CFU mL⁻¹ yield average inactivation rates of 3200 and 24000 CFU h⁻¹ for RSD/pSi⁺ and H–RDP/pSi⁻ films, respectively. The sensitizer charge, its load on the polymer support and the ionic character of the silicone surface play an essential role on the singlet oxygen production in heterogenous media, the stability of the resulting material, and on the interaction with bacteria, determining the microorganism inactivation efficiency of the ionic silicone-based photosensitizing materials.

Keywords: *Solar Water Disinfection, Ru(II) Coordination Complexes, Porous Silicone, Photosensitizer Dye, Singlet Oxygen, Enterococcus faecalis.*

[§] This article was published as part of the themed issue in honour of Esther Oliveros.

* Corresponding author: orellana@quim.ucm.es

Mailing address: Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain.

Phone: 34–91–3944220. Fax: 34–91–3944103.

1. INTRODUCTION.

In the last decades, the scientific community working in the field of photochemistry has devoted a great effort to develop new photochemical materials and technologies that can be applied to water purification, since availability of clean, fresh water is one of the most important problems currently open to public debate, not only in less developed countries.^{11,57,148,200,201,202} New materials and reactors for water disinfection and decontamination using (solar) light have been recently developed for inclusion in conventional water purification pilot plants.^{203,204,205} UV-C light has demonstrated to be an excellent disinfectant but its low penetration depth and relatively high cost are limiting factors for its widespread use. Based on inexpensive solar radiation, the established solar disinfection (SODIS) method uses the combined effect of the UV-A light plus the temperature increase to inactivate waterborne bacteria for domestic consumption; however, this technique is of limited throughput and poorly effective under cloudy conditions or with turbid waters.^{149,206,207,208}

Photochemically-generated reactive oxygen species (ROS) such as the hydroxyl radical (HO^\bullet), superoxide anion ($\text{O}_2^{\bullet-}$) or singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) are powerful oxidants able to react with most organic molecules and, consequently, to inflict damage on microorganisms due to its reactivity with membrane lipids and proteins.^{142,178,184,209,210,211} Such oxidizing species can be readily generated in water from the naturally dissolved

²⁰⁰ Legrini, O., Oliveros, E., Braun, A. M. "Photochemical Processes for Water Treatment", Chem. Rev., **1993**, 93, 671–698.

²⁰¹ Braun, A. M., Oliveros, E. "How to Evaluate Photochemical Methods for Water Treatment", Water Sci. Technol., **1997**, 35, 17–23.

²⁰² Oppenländer, T. "Photochemical Purification of Water and Air; Advanced Oxidation Processes (AOPs): Principles, Reaction Mechanisms, Reactor Concepts", **2003**, Wiley-VCH, Weinheim.

²⁰³ Kuznetsova, N., Makarov, D. A., Kaliya, O. L., Vorozhtsov, G. N. "Photosensitized Oxidation by Dioxigen as the Base for Drinking Water Disinfection", J. Hazard. Mater., **2007**, 146, 487–491.

²⁰⁴ Bonnett, R., Krysteva, M. A., Lalov, I. G., Artarsky, S. Z. "Water Disinfection Using Photosensitizers Immobilized on Chitosan", Water Res., **2006**, 40, 1269–1275.

²⁰⁵ Malato, S., Blanco, J., Alarcón, D. C., Maldonado, M. I., Fernández, P., Gernjak, W. "Photocatalytic Decontamination and Disinfection of Water With Solar Collectors", Catal. Today, **2007**, 122, 137–149.

²⁰⁶ Berney, M., Weilenmann, H. U., Simonetti, A., Egli, T. "Efficacy of Solar Disinfection of *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium* and *Vibrio cholerae*", J. Appl. Microbiol., **2006**, 101, 828–836.

²⁰⁷ Kehoe, S. C., Joyce, T. M., Ibrahim, P., Gillespie, J. B., Shahar, R. A., McGuigan, K. G. "Effect of Agitation, Turbidity, Aluminium Foil Reflectors and Container Volume on the Inactivation Efficiency of Batch-process Solar Disinfectors", Water Res., **2001**, 35, 1061–1065.

²⁰⁸ Mani, S. K., Kanjur, R., Singh, I. S. B., Reed, R. H. "Comparative Effectiveness of Solar Disinfection Using Small-Scale Batch Reactors with Reflective, Absorptive and Transmissive Rear Surfaces", Water Res., **2006**, 40, 721–727.

²⁰⁹ Maness, P. C., Smolinski, S., Blake, D. M., Huang, Z., Wolfrum, E. J., Jacoby, W. A. "Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO_2 Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism", Appl. Environ. Microbiol., **1999**, 65, 4094–4098.

²¹⁰ Khaengraeng, R., Reed, R. H. "Oxygen and Photoinactivation of *Escherichia coli* in UVA and Sunlight", J. Appl. Microbiol., **2005**, 99, 39–50.

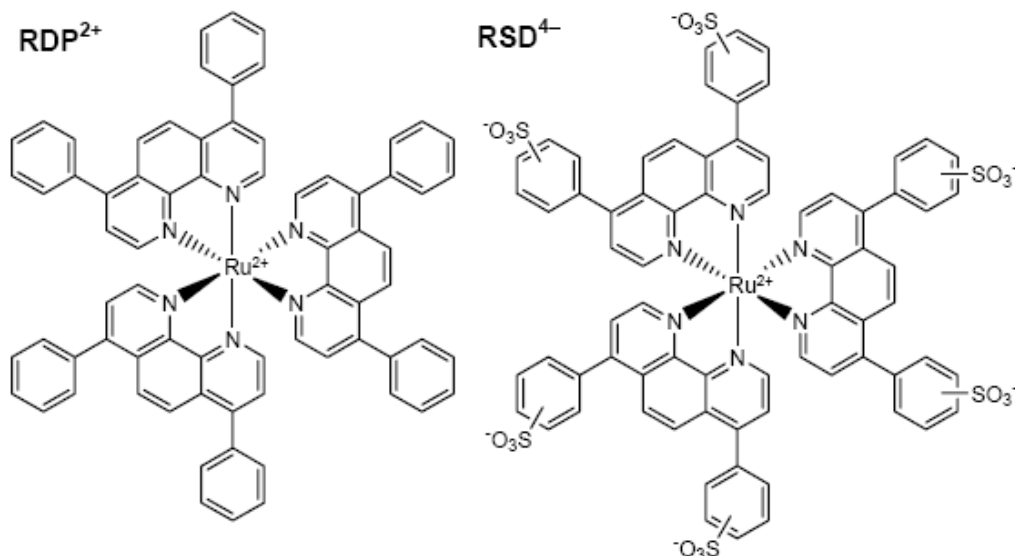
²¹¹ Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D., Alvarez, P. J. J. "Antimicrobial Nanomaterials for Water Disinfection and Microbial Control: Potential Applications and Implications". Water Res., **2008**, 42, 4591–4602.

molecular oxygen (O_2), sunlight and a suitable photocatalyst which, upon the absorption of light, promotes electron or energy transfer processes to yield the ROS. Photosensitization is an effective mechanism to catalytic $^1\text{O}_2$ generation. In this process, after illumination, energy transfer occurs from the triplet excited state of a suitable dye (photosensitizer) to the ground state of dioxygen producing $^1\text{O}_2$ and regenerating the sensitizer in its ground state.⁵⁶ The photosensitization process can be carried out in homogeneous or heterogeneous media. In order to produce drinking water, the use of supported photosensitizers is the best choice since the dye does not need to be removed from water before human consumption. Photosensitizers such as rose bengal or methylene blue have high $^1\text{O}_2$ -production quantum yields (>0.5) but show poor photochemical and thermal stability.^{143,145} Coordination complexes of ruthenium(II) with polyazaheterocyclic chelating ligands have proved to be useful singlet oxygen photosensitizers under UV-Vis radiation due to the fast quenching of their excited state by molecular oxygen and because of their advantages vs. organic sensitizers in terms of (photo)chemical and thermal stability. Moreover, these dyes can be attached to different polymers when heterogeneous processes have to be developed.^{73,74,98,100,137,146} Our research group has recently evaluated the efficiency of two types of solar reactors for water disinfection using singlet oxygen photosensitizing materials based on Ru(II) polyazaheterocyclic complexes and a (neutral) porous silicone support.^{138,139} In the present study we compare the efficiency of *Enterococcus faecalis* inactivation in water by several photosensitizing materials made of different Ru(II) complexes immobilized on anionic and cationic porous silicones, in terms of photosensitizer type, polymer support and endurance of the water-disinfecting material.

2. EXPERIMENTAL.

2.1. Preparation of the sensitizing dyes.

Two different Ru(II) complexes, namely tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) dichloride, abbreviated RDP²⁺, and tetrasodium tris(1,10-phenanthroline-4,7-bis(benzenesulfonate))ruthenate(II), abbreviated RSD⁴⁻ (Scheme 2), were prepared from the appropriate commercial chelating ligand and ruthenium trichloride hydrate, according to established procedures.^{73,139}



Scheme 2. Structure of the $^1\text{O}_2$ photosensitizing coordination complexes of ruthenium(II) with polyazaheterocyclic chelating ligands.

2.2. Preparation of the silicone strips with immobilized photosensitizers.

RDP $^{2+}$ was attached to an anionic surface-modified porous silicone (hereafter called **pSil $^-$**) prepared from porous silicone (CulturSil, Cellaon, Luxembourg) by Bionic Surfaces (Wuerzburg, Germany) according to a proprietary wet-chemical procedure.¹²⁴ Sensitizer immobilization at different loads was achieved by stirring small pieces of pSil $^-$ (35 x 8 x 1.5 mm) for 1 day in vials containing 10 mL of RDP $^{2+}$ stock solutions (2.5, 3.6 and 9.2 x 10 $^{-4}$ M, respectively) in methanol. RSD $^{4-}$ was immobilized on a cationic surface-modified porous silicone, hereafter called **pSil $^+$** . This material was also prepared by Bionic Surfaces and the immobilization process is similar to that described above for the cationic sensitizers. A 6.0 x 10 $^{-4}$ M RSD $^{4-}$ stock solution in methanol was used. The photosensitizing materials prepared in this way have been abbreviated **RDP/pSil $^-$** and **RSD/pSil $^+$** , respectively.

2.3. Photophysical and photochemical characterization of the sensitizing materials.

The absorption and emission spectra of the sensitizer solutions and dyed porous silicone samples were recorded with a Varian Cary 3Bio UV–Vis spectrophotometer (CA) and a Perkin-Elmer LS–5 spectrofluorometer (MA), respectively, according to previous procedures.^{138,139} Controlled atmospheres were prepared from gas cylinders containing N $_2$ (C55, Carburros Metálicos, Spain) or O $_2$ (5.0, Praxair, Spain). A computer operated mass-flow controller (ICP, Madrid, Spain) was used to supply gas mixtures of known composition to the samples.¹³⁸ Emission lifetimes of the sensitizing materials dipped in water were measured with an Edinburgh Instruments (UK) FL–900 single-photon

timing (SPT) spectrometer. Excitation of the samples was carried out with a Horiba-Jobin-Yvon (France) NanoLED-07N 405-nm pulsed laser diode. Membrane samples were placed in the diagonal of 1×1 cm quartz cells (Hellma QS, Germany) and slightly tilted to minimize collection of the scattered light. Four cut-off filters were used as a set in the emission path to avoid distortions from scattering (455, 475, 515 and 550 nm, Lambda Research Optics, CA). The luminescence decay profiles were fit to a sum of 2–3 exponential functions and the preexponentially weighted mean lifetimes, τ_M were calculated from the experimental data ($\tau_M = \sum B_i \tau_{Ti} / \sum B_i$, where B_i and τ_{Ti} are the corresponding preexponential factors and lifetime components of the curve fit, respectively).

The $^1\text{O}_2$ lifetime was determined for moistened samples (immediately after removing them from water) by detection of their characteristic phosphorescence at 1270 nm with an Edinburgh Instruments (UK) LP-900 laser flash photolysis system equipped with a film holder in a “magic angle” configuration for minimum light scattering detection, a Nd-YAG laser (Minilite II, Continuum, CA) for excitation at 532 nm (20 mJ/pulse) and a Hamamatsu H10330-45 NIR PMT detector. The emission spectrum of $^1\text{O}_2$ produced by the different samples was obtained by averaging 25 emission decays every 10 nm between 1190 and 1360 nm, using the time-resolved emission spectroscopy (TRES) acquisition mode included in the EI software package. The Horiba-Jobin-Yvon (NJ) DynaMic instrument for fluorescence intensity and lifetime imaging (FLIM) used to characterize the photosensitizing materials includes an epifluorescence confocal microscope (Olympus BX51, NY) equipped with a CCD camera (uEye UI-1450-C, IDS, Germany) with 1600×1200 pixels for bright field image recording. As a picosecond light source, a laser emitting diode (H-J-Y NanoLED-470LH) was used (463 nm peak wavelength, 900 ps pulse width, 100 KHz repetition rate). A 470 nm interference filter (Chroma HQ470/20x, VT) was placed in the excitation path and a 490 nm dichroic mirror (Olympus Q490DCXR) was set in the 6-position cube turret. Since the emission maximums of the investigated sensitizers were around 630 nm, a 590 nm cut-off filter (CG-OG-590-1.00-3, CVI Technical Optics, UK) was used to further minimize the detection of scattered light in the emission beam. The H-J-Y FluoroHub controller for sequential single photon timing detection was interfaced to a H-J-Y TBX picosecond photon detection module equipped with a fast red-sensitive PMT detector with thermoelectric cooling for lower noise operation. Variable delay times with respect to the trigger pulse could be adjusted with an external gate and delay generator (Ortec 416A, TN). Luminescence decays were measured for moistened samples with a 10 μs window and lifetimes were obtained from tri-exponential curve fitting using a least-square fitting algorithm (without deconvolution). For each sample at least 30 pixels (one decay/pixel) were recorded, and the preexponentially weighted mean lifetimes (τ_M) were calculated. The acquisition time of each pixel was typically in the 300–500 s range.

2.4. Photodisinfection assays.

The photosensitizing materials were tested both in laboratory-scale and outdoors experiments for the inactivation of waterborne bacteria. The solar-simulated lab-scale setup is based on a collector-free tubular photoreactor, placed 10 cm away from a 150-W Xe lamp (Oriel, CT), containing 0.8 x 3.5 cm pieces of Ru-doped or undoped silicone. The total volume of water treated in each experiment was 10 mL and the water flow-rate was 0.25 mL min⁻¹. The complete experimental setup is described in a previous publication.¹³⁷ Outdoor experiments were carried out in standard fluorescence plastic cells using 3 mL of stirred water (10⁴ CFU mL⁻¹ bacteria concentration) in contact with 0.8 x 3.5 cm pieces of Ru-doped or undoped silicone exposed to sunlight. The microorganism strain used to evaluate the effect of the photogenerated singlet oxygen on bacterial survival was the gram-positive bacteria *Enterococcus faecalis* (CECT 5143). The initial microorganism concentration in spring-bottled water was 10⁴ CFU mL⁻¹. The culturability, procedures and evaluation of results have been described before.¹³⁸ All the experiments were run at least twice, unless stated otherwise. After each disinfection experiment, the films of photosensitizing material were autoclaved in water (121 °C, 2 atm, 16 min) and then kept under water in the dark in the sterilized vial.

3. RESULTS AND DISCUSSION.

3.1. Characterization of the photosensitizing materials.

The absorption maxima in the visible region of the RDP²⁺ sensitizer are 461 nm (H₂O–MeOH 9:1 v/v solution, $\epsilon_{461} = 29500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) and 444 nm for RDP²⁺ immobilized onto pSiL⁻ under air-equilibrated water. Its emission maximum is 632 nm in water but 627 nm when attached to the anionic pSiL⁻ polymer, showing a slight hypsochromic shift (and/or rigidochromism) in the less polar environment provided by the ionic porous silicone. In the case of the anionic RSD⁴⁻ sensitizer, the absorption and emission maxima in water are 462 nm ($\epsilon_{462} = 31650 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) and 632 nm, respectively. When RSD⁴⁻ is supported on cationic porous silicone (pSiL⁺) its absorption and emission maxima under air-equilibrated water appear at 462 nm and 605 nm, respectively, displaying a strong hypsochromic shift after immobilization compared to that of the cationic sensitizer probably due to the much higher polarity of RSD⁴⁻. From the point of view of singlet oxygen production, both sensitizers display the same $^1\text{O}_2$ photogeneration quantum yield (Φ_{Δ}), within the experimental error ($\Phi_{\Delta} = 1$ in deuteriated methanol and $\Phi_{\Delta} = 0.43$ in deuteriated water).⁷³

Photosensitizing materials incorporating the RDP²⁺ complex on pSiL⁻ were prepared at three different loads as deduced from a spectrophotometric analysis of the supernatants plus washouts (0.75, 1.15 and 4.40 g m⁻², abbreviated **L–RDP/pSiL⁻**, **M–RDP/pSiL⁻**, and **H–RDP/pSiL⁻**, respectively). The anionic RSD⁴⁻ sensitizer was loaded at 0.03 g m⁻² on pSiL⁺. The anionic pSiL⁻ support is able to bind a high amount of RDP²⁺ without

reaching surface saturation (no precipitate of RDP^{2+} was found on the pSi^- surface even in the H-RDP/pSi^- material containing the highest sensitizer load, Figure 56). However, the amount of RSD^{4-} on pSi^+ achieved by electrostatic attachment is very low compared to that of the cationic sensitizer on the anionic pSi^- . This fact could be due to the high solubility of RSD^{4-} in polar solvents compared to the very hydrophobic RDP^{2+} , which severely limits the sensitizer uptake by the polymer. As a matter of fact, we were not able to load RSD^{4-} onto pSi^+ from aqueous solutions of the anionic sensitizer; nevertheless, when RSD^{4-} was dissolved in methanol, a slightly yellow RSD/pSi^+ film was obtained.

The confocal microscopy images from fluorescence lifetime imaging (FLIM) experiments shown in Figure 56 reveal the porous morphology of the RDP/pSi^- silicone materials. As expected, the luminescence *intensity* image (Figure 56, left) shows the highest values for the material walls. Surprisingly enough, the luminescence *lifetime* images (Figure 56, right) depict the longest Ru dye emission lifetimes for the voids of the polymer. Unlike the emission from the walls, the out-of-focus luminescence from the voids probably contains less scattering contribution so that the measured preexponentially weighted emission lifetime is longer in these regions.

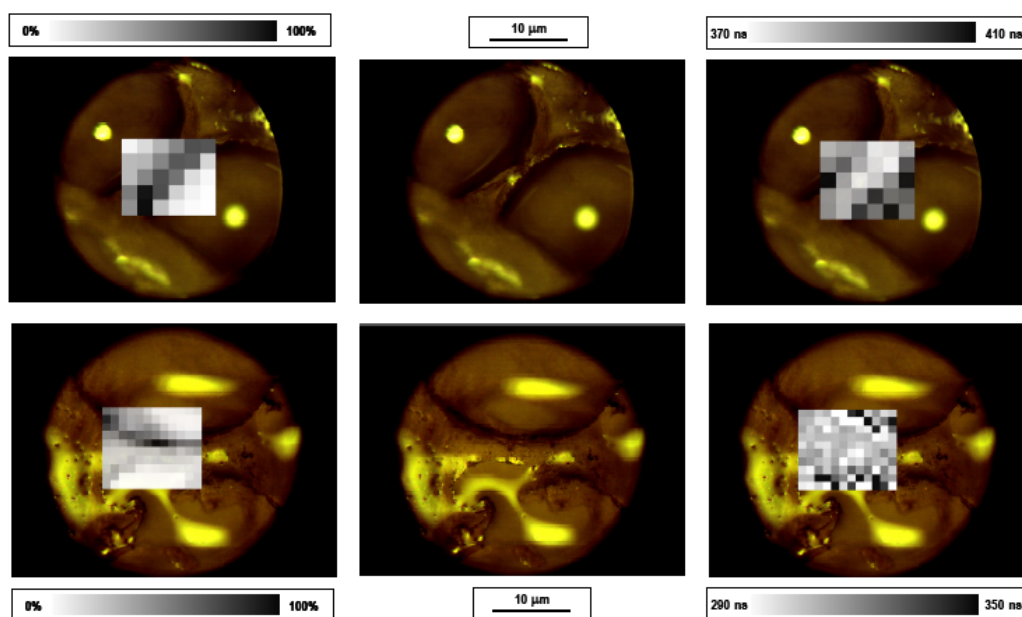


Figure 56. Characterization of M-RDP/pSi^- (upper series of photographs) and H-RDP/pSi^- (lower series of photographs) photosensitizing materials using fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM). Fluorescence intensity images (left), 10X bright field images (centre) and luminescence lifetime images (right) are depicted.

The photochemical parameters of the novel Ru(II) -based photosensitizing materials are summarized in Table 12. The RDP/pSi^- materials display luminescence lifetimes (τ_{M0} in the absence of O_2 quencher in water and τ_{M} in air-equilibrated water) that depend

strongly on the RDP^{2+} load of the pSi^- polymer and, consequently, different probabilities of excited state deactivation by O_2 have been calculated ($0.37 < P_{\text{O}_2}^{\text{T}} < 0.88$). The average emission lifetime in the absence of dioxygen ($\tau_{\text{M}0}$) increases with the sensitizer load, while the lifetimes in the air-equilibrated materials show the opposite trend. According to this finding, the probability of excited state deactivation by O_2 ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$) increases with the RDP^{2+} load on the pSi^- (Table 12). The RSD/pSi^+ material, containing a very low level of sensitizer dye, also shows a small $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$.

The parallel increase of the luminescence lifetime with the dye loading might suggest that, for the highest doped pSi^- (4.4 g m^{-2}), most of its surface anionic sites are occupied by the cationic dye so that it also adsorbs onto the hydrophobic domains of the silicone due to the dye hydrophobicity. For the sake of comparison, the highest loading of RDP^{2+} adsorbed on neutral pSi achieved to date is 2.0 g m^{-2} .¹³⁹ This explanation is supported by the $3.1 \text{ }\mu\text{s}$ emission lifetime measured for RDP^{2+} on (neutral) pSi in the absence of oxygen,¹³⁹ a value very close to the $\tau_{\text{M}0}$ observed for H-RDP/pSi^- ($3.5 \text{ }\mu\text{s}$, Table 12). Moreover, Ru sensitizer species located in more hydrophobic domains would be subject to more efficient O_2 quenching due to the higher solubility of the latter, so that their τ_{M} under these conditions will be lower (Table 12).

Table 12. Photochemical characterization of the moistened Ru(II)-based photosensitizing materials, unless otherwise stated.

Material	$\tau_{\text{M}0}^{a,b} / \mu\text{s}$	$\tau_{\text{M}}^{a,c} / \mu\text{s}$	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}d}$	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}e}$	$\tau_{\Delta}^g / \mu\text{s}$
L-RDP/pSi⁻	1.3	0.83	0.37	— ^f	30
M-RDP/pSi⁻	1.9	0.49	0.74	0.73	30
H-RDP/pSi⁻	3.5	0.41	0.88	0.83	32
RSD/ pSi⁺	1.3	0.63	0.49	— ^f	25

^a $\tau_{\text{M}} = \Sigma B_i \tau_i / \Sigma B_i$; uncertainty: $\pm 10\%$.

^b N_2 -purged water.

^c Air-equilibrated water.

^d From time-resolved emission measurements. $P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 1 - (\tau_{\text{M}} / \tau_{\text{M}0})$.

^e From steady-state emission measurements. $P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 1 - (I/I_0)$.

^f Not determined due to low emission of the material in air-equilibrated water.

^g Uncertainty: $\pm 15\%$.

Singlet oxygen emission was detected for every photosensitizing material analysed and $^1\text{O}_2$ emission lifetimes in the $25\text{--}32 \text{ }\mu\text{s}$ range have been measured for the moistened materials under air. No singlet oxygen emission was detected with the blank polymers. Figures 57A and 57B show the typical decay kinetics and emission spectrum of $^1\text{O}_2$ photogenerated on porous silicone, respectively. The spectrum at very short times after the laser pulse displayed in Figure 57B corresponds to $^1\text{O}_2$ emission superimposed with the emission tail of the Ru(II) sensitizer in the NIR region, which can still be detected *ca.* $12 \text{ }\mu\text{s}$ after the laser pulse.⁷³ Emission lifetimes of singlet oxygen tend to be shorter ($25\text{--}32 \text{ }\mu\text{s}$) when $^1\text{O}_2$ is produced in the moistened RDP/pSi^- and RSD/pSi^+ materials,

compared to a lifetime of *ca.* 40 μs observed in the moistened RDP/pSi material made of neutral porous silicone.¹³⁹ This fact suggests that in the ionic pSils the sensitizer occupies the more external domain of the hydrated polymer and, therefore, singlet oxygen is photogenerated by the dye in a slightly more polar microenvironment than that generated more deeply into the neutral porous silicone. However, the observed $^1\text{O}_2$ lifetime is still 7– to 10–fold longer than that measured in water, a bonus for the disinfection process.

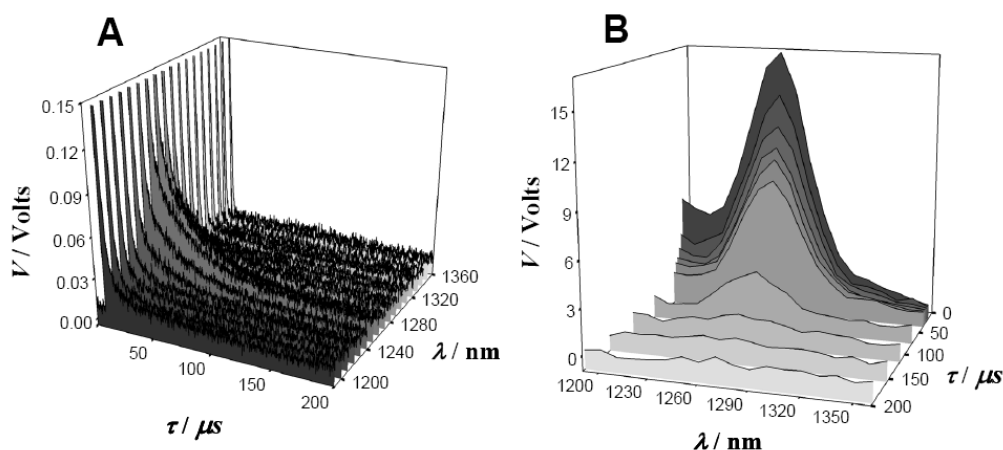


Figure 57. Emission kinetics of $^1\text{O}_2$ produced by RDP/pSi $^-$ material (A) in a time window of 200 μs and (B) the corresponding emission spectrum of $^1\text{O}_2$ acquired by time resolved emission spectroscopy (TRES) in the 1190–1360 nm range.

3.2. Disinfection assays.

Photoinactivation of *E. faecalis* with RDP/pSi $^-$ materials was studied under solar-simulated radiation (Xe lamp) and sunlight. No significant bacteria inactivation was observed with L-RDP/pSi $^-$ and M-RDP/pSi $^-$ after 4 h of illumination using the lab-scale simulator (*ca.* 20 W m^{-2} irradiance in the 360–700 nm region, equivalent to a 0.07 MJ m^{-2} dose of accumulated solar radiation in 60 min). However, the most doped material H-RDP/pSi $^-$ provides significant inactivation as depicted in Figure 58A (a decrease in the bacterial concentration of two orders of magnitude compared to only *ca.* 30% decrease with undoped pSi $^-$ after 4 h of Xe-lamp irradiation). Outdoor experiments were carried out with RDP/pSi $^-$ photosensitizing materials under sunlight (*ca.* 400 W m^{-2} irradiance during 60 min, equivalent to 1 MJ m^{-2} of accumulated solar radiation in the 360–700 nm region) using blank pSi $^-$ as a control. After 45 minutes of sunlight no significant differences of the bacteria survival between L-RDP/pSi $^-$ and blank pSi $^-$ (SODIS effect) were observed (*ca.* 50% inactivation was attained in both cases, Figure 58B). On the other hand, M-RDP/pSi $^-$, under the same conditions, provides better inactivation (one *log* unit decrease for the same accumulated radiation dose) and H-RDP/pSi $^-$ yields complete disinfection under these conditions (Figure 58B).

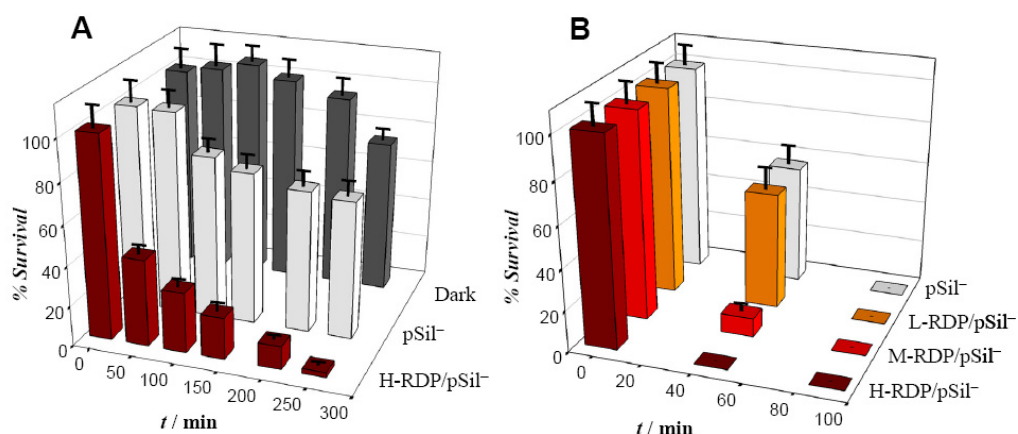


Figure 58. Evolution of an *E. faecalis* suspension in water (10^4 CFU mL⁻¹) irradiated in the presence of RDP/pSi⁻ materials: (A) H-RDP/pSi⁻ and pSi⁻ under 150-W Xe lamp irradiation, compared with a control run in dark conditions; (B) L-RDP/pSi⁻, M-RDP/pSi⁻, H-RDP/pSi⁻ and pSi⁻ under solar irradiation.

The higher load of sensitizing dye leads obviously to production of a higher amount of $^1\text{O}_2$. However, since inactivation of bacteria must take place on the silicone surface due to the short lifetime of $^1\text{O}_2$ in water (3.5 μs),⁵⁷ neutralization of the negative surface of pSi⁻ by increasingly higher amounts of immobilized RDP²⁺ would also help to bind a larger amount of (negatively charged) bacteria with detrimental effects for their survival.

Despite the good bacteria-inactivation properties observed under sunlight with the pSi⁻ containing a medium-to-high sensitizer loading, an important decrease in the disinfection ability of these materials was observed with each autoclaving carried out for their sterilization after each disinfection experiment. This effect is due to sensitizer leaching during the autoclaving process, as it has been confirmed by Vis absorption measurements of the supernatant water. Further support is provided by comparison of the results collected in Table 13 for H-RDP/pSi⁻. $P\text{O}_2^T$ and τ_{M0} decrease significantly after 8 autoclaving treatments, becoming closer to those of L-RDP/pSi⁻ (low sensitizer loading). As a matter of fact, after 10 autoclaving processes no significative differences between the H-RDP/pSi⁻ and the blank pSi⁻ polymer were observed in their disinfection efficiency tested with the lab-scale microreactor.

Table 13. Influence of the accumulation of autoclaving steps on the photochemical parameters of the H-RDP/pSil[−] photosensitizing material.

Autoclaving treatments	0	6	8
$\tau_{\text{M}_0}^{a,b} / \mu\text{s}$	3.5	2.1	1.5
$\tau_{\text{M}}^{a,c} / \mu\text{s}$	0.41	0.55	0.66
$P_{\text{O}_2}^{\text{T},d}$	0.88	0.74	0.56

^a Uncertainty: $\pm 10\%$.^b N₂-purged water.^c Air-equilibrated water.^d From time-resolved emission measurements.

Photoinactivation of *E. faecalis* with RSD/pSil⁺ was studied only in the microreactor system (10^4 CFU mL^{−1} initial bacteria concentration). Figure 59A shows similar inactivation of bacteria for the Ru-doped and the sensitizer-free pSil⁺ material, compared to control samples in the dark. Only after 20 h of continuous illumination does RSD/pSil⁺ achieve an inactivation level beyond the statistical error when compared to the blank polymer (the bacteria concentration decreases to *ca.* 35% of the initial *E. faecalis* concentration for RSD/pSil⁺ vs. 50% for blank pSil⁺). The low inactivation achieved with RSD/pSil⁺ could be due to the low sensitizer load attained in this polymer (yielding a small $^1\text{O}_2$ production and, consequently, almost a negligible contribution of the photodynamic effect on the microorganism inactivation) and/or to the *apparent* bacteria inactivation effect of the cationic pSil⁺ due to microorganism adsorption *via* electrostatic interaction. In order to ascertain whether the positive charge of the functionalized silicone is responsible for the observed lower bacteria concentration in the aqueous phase, the evolution of water-borne bacteria in the presence of pSil, pSil⁺ and pSil[−] was tested in the lab-scale reactor (data not shown) and under sunlight (Figure 59B). When the blank polymers were tested in the microreactor, no differences between the three silicone polymers were noticed. However, sunlight provokes an important SODIS effect due to the *ca.* 20-fold radiation dose difference and the occurrence of thermal effects compared to the lab photoreactor. No significant differences were observed in the inactivation ability of pSil and pSil[−], yet after 60 min of solar irradiation, bacteria concentration in the presence of pSil⁺ decreases more than 2 orders of magnitude (*vs. ca.* 1 order of magnitude for pSil and pSil[−]). Therefore, under sunlight, the positively charged pSil⁺ shows a higher inactivation efficiency, probably due to a combination of increased bacteria adsorption (stirred water compared to the laminar flow in the lab photoreactor) and enhanced SODIS effect. When this polymer was loaded with RSD^{4−}, a slight improvement on its ability to inactivate bacteria was detected (Figure 59A) because of the low amount of dye in the photosensitizing material. Although RSD^{4−} is not efficient to inactivate bacteria *via* $^1\text{O}_2$ generation due to its high negative charge,¹³⁷ immobilization onto positively charged silicone is able to reverse its behaviour.

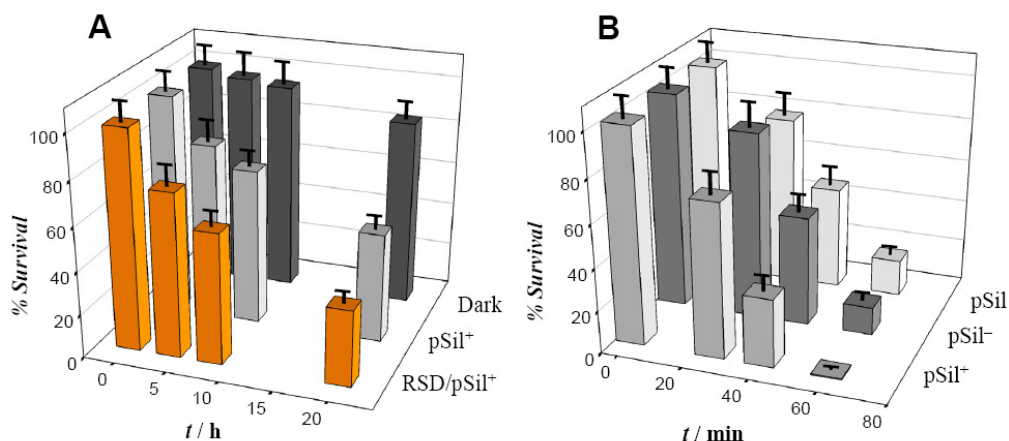


Figure 59. Evolution of an *E. faecalis* suspension in water (10^4 CFU mL $^{-1}$) illuminated in the presence of different porous silicone materials: (A) RSD/pSil $^+$ and pSil $^+$ under 150-W Xe lamp irradiation compared with a control run in dark conditions; (B) blank pSil polymers (pSil, pSil $^-$ and pSil $^+$) under sunlight.

It is possible to compare quantitatively the performance of all the photosensitizing materials according to their average inactivation rate in the lab-scale reactor. Ru(II) sensitizers immobilized on ionic pSil (RSD/pSil $^+$ and H-RDP/pSil $^-$) show inactivation rates of 3200 and 24000 CFU h $^{-1}$, respectively, for a 10^4 CFU mL $^{-1}$ initial concentration of *E. faecalis*. Therefore, H-RDP/pSil $^-$ is overall the best photosensitizing material as far as the efficiency of bacteria inactivation is concerned. The high load of RDP $^{2+}$ on the anionic polymer surface provides a more efficient interaction with bacteria, emulating the efficient disinfection in homogeneous media by the bacteria-bound dye,^{138,212} while keeping the advantages of water disinfection in heterogeneous media. Nevertheless, from the point of view of durability, the dye leaching caused by the autoclave treatment is currently a limitation that must be overcome before scaling-up.

4. CONCLUSIONS.

This work has demonstrated that the interplay between the sensitizer charge and the ionic character of the silicone surface determines both the photochemical properties and the bacteria inactivation efficiency of photosensitizing materials. Materials with higher sensitizer loads display longer excited state lifetimes in the absence of dioxygen, better O_2 quenching efficiencies and longer singlet oxygen emission lifetimes, yielding higher bacteria inactivation rates. The high solubility of RSD $^{4-}$ in polar solvents prevents enough sensitizer loading on cationic porous silicone, decreasing its photodynamic ability for water disinfection. However, surface charge neutralization seems to be a

²¹² Orellana, G., Villén, L., Jiménez-Hernández, M. E. “Desinfección Mediante Fotosensibilizadores: Principios Básicos” in SOLARSAFEWATER: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua, Blanco, J., Blesa, M. A. (eds.), **2005**, Escuela de Posgrado UNSAM, Buenos Aires.

promising strategy to enhance the $^1\text{O}_2$ photodisinfection power of immobilized anionic sensitizers. A strong decrease in the bacteria photoinactivating properties of RDP/pSi $^-$ and RSD/pSi $^+$ after autoclaving has been observed. Therefore, in order to maintain the water disinfecting properties of these photoactive materials, steam sterilization must be avoided. Further work is in progress to improve the endurance of the photosensitizing materials by covalent bonding of the dyes to modified porous silicones.

Acknowledgements. The authors gratefully thank Dr. Rolf Siegel (Bionic Surfaces, Germany) for the kind preparation of surface-modified pSi films. Dr. Juan López Gejo (UCM) is acknowledged for technical assistance and helpful discussions on the fluorescence lifetime imaging experiments. This project has been funded by the Spanish Ministry of Science and Innovation (grant no. CTQ2006–15610–C02–01/BQU) and UCM (CCG07–UCM–AMB–2932). F. M. thanks UCM for a PhD grant.

(E) Photochem. Photobiol. Sci., **2010** (DOI: 10.1039/c0pp00026d).¹⁴¹

SINGLET OXYGEN SENSITIZING MATERIALS BASED ON POROUS SILICONE: PHOTOCHEMICAL CHARACTERIZATION, EFFECT OF DYE RELOADING AND APPLICATION TO WATER DISINFECTION WITH SOLAR REACTORS.

Francisco Manjón, Montserrat Santana-Magaña,[#] David García-Fresnadillo and Guillermo Orellana^{*}

Laboratory of Applied Photochemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain.

ABSTRACT.

Photogeneration of singlet molecular oxygen ($^1\text{O}_2$) is applied to organic synthesis (photooxidations), atmosphere/water treatment (disinfection), antibiofouling materials and in photodynamic therapy of cancer. In this paper, $^1\text{O}_2$ photosensitizing materials containing the dyes tris(4,4'-diphenyl-2,2'-bipyridine)ruthenium(II) (RDB^{2+}) or tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II) (RDP^{2+}), immobilized on porous silicone (abbreviated RDB/pSil and RDP/pSil), have been produced and tested for waterborne *Enterococcus faecalis* inactivation using a laboratory solar simulator and a compound parabolic collector (CPC)-based solar photoreactor. In order to investigate the feasibility of its reuse, the sunlight-exposed RDP/pSil sensitizing material (RDP/pSil-a) has been reloaded with RDP^{2+} (RDP/pSil-r). Surprisingly, bacteria inactivation results with the reloaded material have demonstrated a 4-fold higher efficiency compared to those of either RDP/pSil-a , unused RDB/pSil and the original RDP/pSil . Surface and bulk photochemical characterization of the new material (RDP/pSil-r) has shown that the bactericidal efficiency enhancement is due to aggregation of the silicone-supported photosensitizer on the surface of the polymer, as evidenced by confocal fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM). Photogenerated $^1\text{O}_2$ lifetimes in the wet sensitizer-doped silicone have been determined to be ten times longer than in water. These facts, together with the water rheology in the solar reactor and the interfacial production of the biocidal species, account for the more effective disinfection observed with the reloaded photosensitizing material. These results extend and improve the operational lifetime of photocatalytic materials for point-of-use $^1\text{O}_2$ -mediated solar water disinfection.

^{*} Corresponding author: orellana@quim.ucm.es

Mailing address: Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain.

Phone: 34-91-3944220. Fax: 34-91-3944103.

1. INTRODUCTION.

The development of sustainable water treatment processes based on sunlight and cost-effective sturdy materials is currently a matter of enormous interest. As far as drinking water is concerned, household (or “*point-of-use*”, POU) water treatment, together with a safe water storage, is currently recognized by the WHO as the most effective, accepted, low-priced method to dramatically reduce diseases related to waterborne microorganisms in isolated areas of less-favored countries.^{2,19,25,213,214} These methods are not bound to replace infrastructural interventions but can be promptly available and accepted by a significant part of the world’s population with lack of access to safe drinking water.^{11,147} POU technologies based on sunlight as an inexhaustible resource stand out because of its effectiveness and sustainable use, and are especially useful in those countries situated in the solar radiation belt. For instance, the simple SODIS (“*solar disinfection*”) process, recommended by WHO/UNICEF to improve somewhat the microbial quality of small amounts of domestic water, uses soda plastic bottles and the combined effect of solar UV–A radiation (≥ 6 h) plus temperatures close to 50 °C.^{149,208} Titanium dioxide is an efficient photocatalyst for reactive oxygen species (ROS) production via electron transfer that has often been applied to microorganisms inactivation under UV–A irradiation or sunlight. In the last decade, bacteria inactivation using TiO_2 nanoparticles in suspension or, more recently, supported on solid matrices, has been thoroughly characterized.^{120,215,216,217} However, TiO_2 -loaded materials show far less efficiency than suspensions and unless doped by other elements such as chromium, platinum or carbon,²¹⁸ TiO_2 is unable to use the visible region of the solar spectrum.

In addition to hydroxyl radical and superoxide anion ROS, singlet molecular oxygen ($^1\text{O}_2$) is a short-lived but powerful oxidant that can be easily generated in air-equilibrated solution using a sensitizing dye. The latter, upon absorption of UV–Vis light, undergoes an energy transfer process from its excited electronic state to triplet ground state oxygen resulting in singlet oxygen production.^{56,142} $^1\text{O}_2$ can induce microorganism inactivation due to its ability to react with most organic molecules and,

²¹³ “*Water for Life: Making It Happen*”, **2005**, WHO, Geneva/UNICEF, New York.

²¹⁴ Gray, N. F. “*Drinking Water Quality: Problems and Solutions*”, 2nd ed., **2008**, Cambridge University Press, New York.

²¹⁵ Choi, H., Sofranko, A. C., Dionysiou, D. D. “*Nanocrystalline TiO_2 Photocatalytic Membranes with a Hierarchical Mesoporous Multilayer Structure: Synthesis, Characterization, and Multifunction*”, *Adv. Funct. Mater.*, **2006**, *16*, 1067–1074.

²¹⁶ Sichel, C., Blanco, J., Malato, S., Fernández, P. “*Solar Effects of Experimental Conditions on *E. coli* Survival During Solar Photocatalytic Water Disinfection*”, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2007**, *189*, 239–246.

²¹⁷ Cerrada, M. L., Serrano, C., Sánchez-Chaves, M., Fernández-García, M., De Andrés, A., Rioboo, R. J., Fernández-Martín, F., Kubacka, A., Ferrer, M., Fernández-García, M. “*Biocidal Capability Optimization in Organic-Inorganic Nanocomposites Based on Titania*”, *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, *43*, 1630–1634.

²¹⁸ Kim, T. W., Hur, S. G., Hwang, S. J., Park, H., Choi, W., Choy, J. H. “*Heterostructured Visible-Light-Active Photocatalyst of Chromia-Nanoparticle-Layered Titanate*”, *Adv. Funct. Mater.*, **2007**, *17*, 307–314.

consequently, to inflict damage on the membrane lipids and proteins.^{67,173,219} Therefore, many applications based on the bactericidal character of $^1\text{O}_2$ have recently been developed, taking advantage of its high reactivity and short lifetime (a few microseconds in water, which in no way represents any risk of toxicity except for those microorganisms in the immediate vicinity to the singlet oxygen photogeneration sites). In this way, novel approaches to photodynamic therapy,²²⁰ cancer theranostics,²²¹ antimicrobial phototherapy,²²² anti-infective photodynamic biomaterials,²²³ biocidal surfaces^{224,225} and fibers²²⁶ or $^1\text{O}_2$ -mediated water disinfection^{203,204} have recently been described.

For practical water disinfection purposes, the photosensitizer must be adequately immobilized within a suitable polymer matrix, in order to favor the interaction with the target microorganisms, allow good diffusion of dioxygen and to avoid leaching of the sensitizer compound to the treated water. In addition, the immobilized sensitizer must be photostable enough to withstand long irradiation periods. Typical organic photosensitizers such as rose bengal or methylene blue have high $^1\text{O}_2$ production quantum yields ($0.5 < \Phi_{\Delta} < 0.8$) but show poor photochemical stability.^{70,143} Coordination complexes of ruthenium(II) with polyazaheterocyclic chelating ligands have proved to be robust and useful molecules for different applications such as chemical probes, antenna systems, or molecular devices,²²⁷ including also its use as $^1\text{O}_2$ photosensitizers due to the near-diffusion control quenching of their long-lived metal-to-ligand charge transfer (MLCT) excited-state by molecular oxygen.^{56,73,228} Moreover,

²¹⁹ Maisch, T., Baier, J., Franz, B., Maier, M., Landthaler, M., Szeimies, R. M., Baumler, W. "The Role of Singlet Oxygen and Oxygen Concentration in Photodynamic Inactivation of Bacteria", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2007**, *104*, 7223–7228.

²²⁰ Wang, S., Gao, R., Zhou, F., Selke, M. "Nanomaterials and Singlet Oxygen Photosensitizers: Potential Applications in Photodynamic Therapy", *J. Mater. Chem.*, **2004**, *14*, 487–493.

²²¹ Cheng, S. H., Lee, C. H., Yang, C. S., Tseng, F. G., Mou, C. Y., Lo, L. W. "Mesoporous Silica Nanoparticles Functionalized with an Oxygen-Sensing Probe for Cell Photodynamic Therapy: Potential Cancer Theranostics", *J. Mater. Chem.*, **2009**, *19*, 1252–1257.

²²² Wainwright, M., Byrne, M. N., Gattrell, M. A. "Phenothiazinium-Based Photobactericidal Materials", *J. Photochem. Photobiol. B-Biol.*, **2006**, *84*, 227–230.

²²³ Parsons, C., McCoy, C. P., Gorman, S. P., Jones, D. S., Bell, S. E. J., Brady, C., McGlinchey, S. M. "Anti-infective Photodynamic Biomaterials for the Prevention of Intraocular Lens-associated Infectious Endophthalmitis", *Biomaterials*, **2009**, *30*, 597–602.

²²⁴ Piccirillo, C., Perni, S., Gil-Thomas, J., Prokopovich, P., Wilson, M., Pratten, J., Parkin, I. P., "Antimicrobial Activity of Methylene Blue and Toluidine Blue O Covalently Bound to a Modified Silicone Polymer Surface", *J. Mater. Chem.*, **2009**, *19*, 6167–6171.

²²⁵ Funes, M. D., Caminos, D. A., Álvarez, M. G., Fungo, F., Otero, L. A., Durantini, E. N. "Photodynamic Properties and Photoantimicrobial Action of Electrochemically Generated Porphyrin Polymeric Films", *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, *43*, 902–908.

²²⁶ Mosinger, J., Jirsák, O., Kubát, P., Lang, K., Mosinger, B. "Bactericidal Nanofabrics Based on Photoproduction of Singlet Oxygen", *J. Mater. Chem.*, **2007**, *17*, 164–166.

²²⁷ Campagna, S., Puntoriero, F., Nastasi, F., Bergamini, G., Balzani, V. "Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds: Ruthenium, Springer" in *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds I*, Topics in Current Chemistry, Vol. 280, Balzani, V. (ed.), **2007**, Springer, Berlin, pp. 117–214.

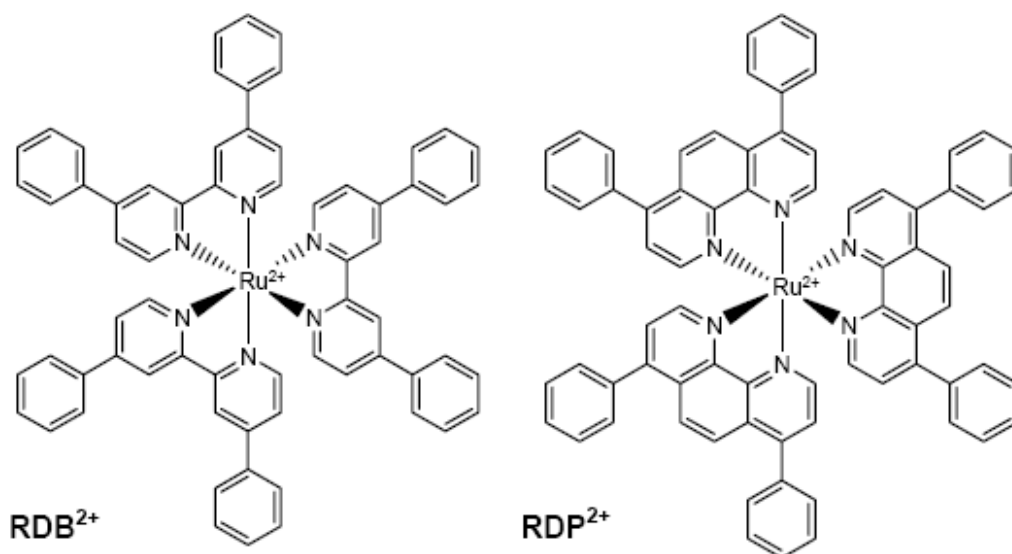
²²⁸ Gutiérrez, M. I., Martínez, C. G., García-Fresnadillo, D., Castro, A. M., Orellana, G., Braun, A. M., Oliveros, E. "Singlet Oxygen ($^1\Delta_g$) Production by Ruthenium(II) Complexes in Microheterogeneous Systems", *J. Phys. Chem. A*, **2003**, *107*, 3397–3403.

these dyes strongly absorb UV–Vis radiation ($10^4 < \varepsilon < 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), display relatively long excited state lifetimes ($10^{-7} < \tau_T < 10^{-5} \text{ s}$) and, compared to other organic sensitizers, are superior in terms of (photo)chemical and thermal stability. In addition, these dyes can be attached via adsorption, electrostatic or covalent bonding to different substrates and polymers,^{98,100,229} when applications such as luminescence optosensing⁷⁵ or singlet oxygen photogeneration are sought.²³⁰

Our research group has recently evaluated the efficiency of different $^1\text{O}_2$ photosensitizing polymer materials containing Ru(II) dyes in solar reactor prototypes for the disinfection of water contaminated with *Escherichia coli* or *Enterococcus faecalis*.^{137,138,139,140,146} The selected sensitizer support was porous silicone due to its optical transparency in the visible region, excellent oxygen permeability and durability among other attractive features. To investigate the long-term usability of the aged materials and the feasibility of their regeneration and reuse, in the present study we have prepared and characterized a new photosensitizing material obtained by reloading with dye the sunlight-aged one. Its photochemical parameters have been determined and compared with those of the original and used materials. We have also tested waterborne *E. faecalis* inactivation as a model microorganism, with several photosensitizing materials prepared with highly hydrophobic cationic Ru(II) complexes (abbreviated RDB²⁺ and RDP²⁺, see Scheme 3) immobilized on thin strips of porous silicone (hereafter called pSil). These biocidal films, named RDB/pSil, RDP/pSil-aged (RDP/pSil-a) after 250 h under sunlight, and RDP/pSil-reloaded (RDP/pSil-r) prepared by recharging RDP/pSil-a with fresh RDP²⁺ photosensitizer, have been assayed for water disinfection using both a lab-scale solar-simulated reactor and a compound parabolic collector (CPC)–based solar reactor. The *E. faecalis* inactivation results obtained have been compared to those described for the unused RDP/pSil material,¹³⁸ finding that the dye-reloaded material, RDP/pSil-r, inactivates bacteria much more efficiently (*ca.* 4-fold faster). This interesting result will be discussed in terms of the photochemical parameters of the new material and the characterization of the photosensitizing material surface, which reveals formation of dye aggregates on the porous surface of the silicone polymer during the reloading procedure.

²²⁹ Mingoarranz, F. J., Moreno-Bondi, M. C., García-Fresnadillo, D., de Dios, C., Orellana, G. “Oxygen-Sensitive Layers for Optical Fibre Devices”, *Microchim. Acta*, **1995**, 121, 107–118.

²³⁰ Abdel-Shafi, A. A., Worrall, D. R., Ershov, A. Y. “Photosensitized Generation of Singlet Oxygen from Ruthenium(II) and Osmium(II) Bipyridyl Complexes”, *Dalton Trans.*, **2004**, 30–36.



Scheme 3. Scheme showing the singlet oxygen photosensitizers [tris(4,4'-diphenyl-2,2'-bipyridine)ruthenium(II)] (RDB²⁺) and [tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II)] (RDP²⁺).

2. EXPERIMENTAL.

2.1. Preparation of the sensitizing dyes.

Two different Ru(II) complexes, namely [tris(4,4'-diphenyl-2,2'-bipyridine)ruthenium(II)] dihexafluorophosphate (abbreviated RDB²⁺, Scheme 3) and [tris(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)ruthenium(II)] dichloride (named RDP²⁺, Scheme 3) were prepared from the appropriate commercial chelating ligand and ruthenium trichloride hydrate, according to established procedures.^{73,139}

2.2. Preparation of the silicone strips with immobilized photosensitizers.

RDP²⁺ and RDB²⁺ sensitizers were immobilized by hydrophobic interactions in cell culture-grade porous poly(dimethylsiloxane) films (CulturSil, Cellon, Luxembourg) as described in previous works.^{138,139} The photosensitizing materials prepared in this way were abbreviated RDP/pSil and RDB/pSil, respectively. On the other hand, a RDP/pSil material irradiated with sunlight for more than 250 h of average irradiance equal to 400 W m⁻² (360–700 nm) and utilized in repeated disinfection experiments (RDP/pSil-a) was reloaded with RDP²⁺ following the reported procedure,¹³⁹ except that the RDP²⁺ solution in contact with the polymer was heated for 4 h under reflux instead of 19 h. The resulting sensitizing material, after extensive washing with water to remove the photosensitizer molecules weakly adsorbed onto the silicone surface (6 × 3 h × 3.4 L, under reflux) was named RDP/pSil-r.

2.3. Photophysical and photochemical characterization of the sensitizing materials.

The absorption spectra of the sensitizer solutions were recorded with a Varian Cary 3Bio UV-Vis spectrophotometer (CA), while the absorption spectra of the dyed porous silicone samples and solid RDP²⁺ sensitizer were collected with a Varian Cary 5 UV-Vis spectrophotometer equipped with a “*praying mantis*” accessory. The emission spectra were recorded with a Perkin-Elmer LS-5 spectrofluorometer (MA). Controlled atmospheres were prepared from gas cylinders containing N₂ (C55, Carburos Metálicos, Spain), O₂ (5.0, Praxair, Spain) or synthetic air (79% N₂ and 21% O₂ in the gas mixture). A computer operated mass-flow controller (ICP, Spain) was used to supply gas mixtures of known composition to the samples.¹³⁸ Emission lifetimes of the sensitizers were measured with an Edinburgh Instruments (UK) FL-900 single-photon timing (SPT) spectrometer. Excitation of the samples was carried out with a Horiba-Jobin-Yvon (France) NanoLED-07N 405-nm pulsed laser diode. Membrane samples were placed in the diagonal of 1 × 1 cm quartz cells (Hellma QS, Germany) and slightly tilted to minimize collection of the scattered light. Four cut-off filters were used as a set in the emission path to avoid distortions from scattering (455, 475, 515 and 550 nm, Lambda Research Optics, CA). The luminescence decay profiles were fit to a sum of 2–3 exponential functions and the preexponentially weighted mean lifetimes, τ_M were calculated from the experimental data ($\tau_M = \Sigma B_i \tau_{Ti} / \Sigma B_i$, where B_i and τ_{Ti} are the corresponding preexponential factors and lifetime components of the curve fit, respectively).

The $^1\text{O}_2$ lifetime was determined by detection of its characteristic phosphorescence at 1270 nm²³¹ with an Edinburgh Instruments (UK) LP-900 laser flash photolysis system equipped with a film holder in a “*magic angle*” configuration for minimum light scattering detection, a Nd-YAG laser (Minilite II, Continuum, CA) for excitation at 532 nm (20 mJ/pulse) and a Hamamatsu H10330-45 NIR PMT detector. The emission spectrum of $^1\text{O}_2$ produced by the different samples was obtained by averaging 25 emission decays every 10 nm between 1190 and 1360 nm, using the time-resolved emission spectroscopy (TRES) acquisition mode included in the EI software package.

The Horiba-Jobin-Yvon (NJ) DynaMic instrument for fluorescence intensity and lifetime imaging (FLIM) used to characterize the photosensitizing films comprises an epifluorescence confocal microscope (Olympus BX51, NY) equipped with a CCD camera (uEye UI-1450-C, IDS, Germany) with 1600×1200 pixels for bright field image recording (object fields of 40 μm dia.). A laser diode (H-J-Y NanoLED-470LH) was used as light source (463 nm peak wavelength, 900 ps pulse width, 100 KHz repetition rate) fit with a 470 nm interference filter (Chroma HQ470/20x, VT) placed in the excitation path and a 490 nm dichroic mirror (Olympus Q490DCXR) set

²³¹ Jiménez-Banzo, A., Ragàs, X., Kapusta, P., Nonell, S. “*Time-Resolved Methods in Biophysics. 7. Photon Counting vs. Analog Time-Resolved Singlet Oxygen Phosphorescence Detection*”, Photochem. Photobiol. Sci., **2008**, 7, 1003–1010.

in the cube turret. Since the emission maxima of the investigated sensitizers were around 620–630 nm, a 590 nm cut-off filter (CG–OG–590–1.00–3, CVI Technical Optics, UK) was additionally used to further minimize detection of scattered light in the emission beam. The H–J–Y FluoroHub controller for sequential single photon timing detection was interfaced to an H–J–Y TBX picosecond photon detection module equipped with a thermoelectrically-cooled red-sensitive fast PMT detector. Variable delay times with respect to the trigger pulse could be adjusted with an external gate and delay generator (Ortec 416A, TN). Luminescence decays were measured for moisted samples with a 10 μs window and lifetimes were obtained from tri-exponential curve fitting using a least-square algorithm without deconvolution. For each sample 391–pixel images (one decay/pixel) were recorded, and the preexponentially weighted mean lifetime (τ_M) was calculated. The acquisition time of each pixel was typically in the 100–150 s range.

2.4. Photodisinfection assays.

The photosensitizing materials were first tested in laboratory-scale experiments for inactivation of waterborne bacteria under solar-simulated irradiation. The lab-scale setup is based on a twin collector-free tubular photoreactor, placed 10 cm away from a 150-W Xe lamp (Oriel, CT), containing 0.8×3.5 cm pieces of the corresponding sensitizing material. The total volume of water treated in each experiment was 10 mL and the water flow-rate was 0.25 mL min^{-1} (peristaltic pump).¹³⁷ Once demonstrated the viability of water disinfection with the reloaded material, subsequent microorganism inactivation tests were performed in a solar reactor. The solar reactor is based on a compound parabolic collector (CPC) manufactured by AoSol (Portugal, under license of Ecosystem Environmental Services, Spain). The CPC used was tilted 40° (local latitude) to maximize the amount of incident sunlight. The solar reactor has 1 m^2 of light collector area where 5 aluminum foil mirrors of W-shaped cross-section illuminate the photosensitizing material arranged in the interior of cylindrical glass tubes (only 4 of the 5 tubes contained the photocatalyst in order to compare with previous results). The photosensitizing material (2.5 strips of $150 \text{ cm} \times 3.5 \text{ cm}$ each) was winded around a polypropylene inner cylinder coaxial with each glass cylinder.^{138,139} The total volume of water treated in the disinfection experiments with the reactor and sunlight was 10 L and the water flow-rate was 2 L min^{-1} .

The microorganism strain used to evaluate the effect of the photogenerated singlet oxygen on bacteria survival was the gram-positive *E. faecalis* bacteria (CECT 5143, where CECT stands for Colección Española de Cultivos Tipo). Depending on the experiments, the initial microorganism concentrations in spring bottled water were 10^3 or 10^4 CFU mL^{-1} . The culturability, analytical procedures and evaluation of results have been described before.¹³⁸ Fresh liquid bacteria cultures were prepared by inoculating an aliquot into Luria-Bertani (LB) broth (Pronadisa, Madrid, Spain) and incubated overnight at 37°C with constant rocking under aerobic conditions. Aliquots of this

culture were inoculated daily into fresh medium and incubated aerobically overnight at 37 °C. Bacterial growth was monitored by recording the absorbance at 600 nm. Microorganisms in their *stationary growth* phase were used for the disinfection testing experiments. To evaluate the disinfection efficiency, samples of the mineral water (AQUAVIVA, AquaService, Madrid, Spain) inoculated with the selected bacteria or after treatment for a certain period of time in the microrreactor and the solar reactor were plated on LB broth agar and incubated at 37 °C for 20 h before (manual) colony counting. Serial dilutions of the samples were carried out when necessary. In order to minimize quantification errors, samples were plated 16 times on a Petri dish with an inoculation volume of 10 μL each. Error bars were statistically determined from the data of 32 replicates (two dishes), at 95% confidence level. All the experiments were run at least twice.

3. RESULTS AND DISCUSSION.

Prolonged exposure of photosensitizing materials to sunlight under the operational conditions for water disinfection invariably leads to photobleaching after several months. This is a consequence of both direct photolysis and ROS-induced photochemistry. However, if the polymer support is robust enough, reloading of the sensitizer would allow extending the lifetime of the biocidal material. Because silicone has demonstrated its stability under sunlight and towards oxidation by $^1\text{O}_2$, the easy preparation of the silicone-based photodisinfecting materials we have developed (boiling the polymer in an aqueous solution of the sensitizer dye) allows their sustainable reuse. Thus, the RDB^{2+} and RDP^{2+} sensitizers were initially loaded to saturation in pSil (1.5 and 2.0 g m^{-2} , respectively),¹³⁹ but only the longest-irradiated RDP/pSil material (of pale orange color due to photobleaching) has been subject to a reloading process and testing. The additional amount of RDP^{2+} complex incorporated in the aged RDP/pSil-a to yield the RDP/pSil-r material has been only 0.30 g m^{-2} ($\pm 10\%$), as determined from the absorbance of the supernatant. In order to compare their performance, all the novel photosensitizing materials have been characterized from the photochemical point of view and their disinfection features have been tested.

3.1. Photochemical characterization of the photosensitizing materials.

The absorption maximum in the visible region of the RDP^{2+} sensitizer is 461 nm ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 9:1 v/v solution, $\epsilon_{461} = 29500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) but 455 nm when immobilized in pSil under water. Its emission maximum is 632 nm in aqueous solution and 623 nm when this sensitizer is immobilized in the pSil polymer (625 nm in the reloaded pSil material). The strong hypsochromic shift is a consequence of the less polar environment of the Ru(II) complex provided by the porous silicone²³² and, probably, some

²³² Castro, A. M., Delgado, J., Orellana, G. "Hydrocarbon Sensing in Water with Luminescent Ru(II) Dyes and Phase-Sensitive Detection", *J. Mat. Chem.*, **2005**, 15, 2952–2958.

contribution of rigidochromism. The absorption maxima of RDB^{2+} are found at 481 and 477 nm in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 4:1 v/v solution ($\epsilon_{481} = 18300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) and pSil polymer, respectively. Its emission maximum appears at 630 nm in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 4:1 v/v but only at 621 nm when immobilized in pSil, showing a hypsochromic shift similar to that observed for the RDP^{2+} complex after immobilization in the silicone. As far as singlet oxygen production is concerned, while the RDP^{2+} sensitizer displays a $^1\text{O}_2$ photogeneration quantum yield (Φ_{Δ}) of 1.0 in deuteriated methanol and 0.43 in deuteriated water,⁷³ Φ_{Δ} of RDB^{2+} in methanol is 0.66 ± 0.07 , determined from time-resolved $^1\text{O}_2$ emission experiments taking RDP^{2+} and [tris(1,10-phenanthrolyl-4,7-bis(benzenesulfonate))ruthenate(II)] as reference sensitizers, both with $\Phi_{\Delta} = 1.0$ in deuteriated methanol.⁷³

Other relevant photochemical parameters of the investigated Ru(II)-doped photosensitizing materials in water are summarized in Table 14. RDP/pSil , $\text{RDP}/\text{pSil-a}$ and $\text{RDP}/\text{pSil-r}$ show comparable values of the preexponentially-weighted mean excited-state lifetime (τ_{M}) under air, although in the absence of oxygen quenching $\tau_{\text{M}0}$ is somewhat shorter for the aged and reloaded materials, while τ_{M} in air-equilibrated water is *ca.* 100 ns longer in the reloaded material. The $\tau_{\text{M}0}$ results point out the existence of a more hydrophilic microenvironment around the sensitizer molecules in the aged and reloaded materials, corroborated by the red shift in the emission spectra of RDP^{2+} in going from the hydrophobic silicone to the water-methanol solution (see above). The shorter-lived emission of RDP^{2+} in pSil-a or pSil-r compared to the unused material (*ca.* 2.5 μs vs. 3.1 μs) may arise from luminophores in the hydrated polymer surface, due to the efficient quenching of the photoexcited sensitizer by the O–H oscillator of the surrounding water molecules.²³³

²³³ García-Fresnadillo, D., Orellana, G. “Interaction of Sulfonated Ruthenium(II) Polypyridine Complexes with Surfactants Probed by Luminescence Spectroscopy”, *Helv. Chim. Acta*, **2001**, 84, 2708–2730.

Table 14. Photochemical data of the Ru(II)–based photosensitizing materials in water.

Material	$\tau_{\text{M}0}^{a,b} / \mu\text{s}$	$\tau_{\text{M}}^{a,c} / \mu\text{s}$	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}d}$	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}e}$	$\tau_{\Delta}^f / \mu\text{s}$
RDP/pSil ^g	3.1	0.48	0.84	0.85	40
RDP/pSil–a	2.4	0.45	0.81	0.87	35
RDP/pSil–r	2.5	0.57	0.77	0.75	30
RDB/pSil ^g	0.75	0.27	0.64	0.56	35

^a Uncertainty: $\pm 10\%$.^b N_2 –purged; $\tau_{\text{M}0} = \Sigma B_i \tau_{\text{Ti}0} / \Sigma B_i$.^c Air-equilibrated; $\tau_{\text{M}} = \Sigma B_i \tau_{\text{Ti}} / \Sigma B_i$.^d From time-resolved emission measurements; $P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 1 - (\tau_{\text{M}} / \tau_{\text{M}0})$.^e From steady-state emission measurements; $P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 1 - (I/I_0)$.^f τ_{Δ} is the $^1\text{O}_2$ lifetime; uncertainty: $\pm 15\%$.^g Ref. (139).

In the case of RDP/pSil–a, photobleaching under the sunlight of the dye molecules immobilized in the inner (hydrophobic) domains of silicone will be predominant due to their longer emission lifetime and higher $^1\text{O}_2$ production compared to the surface-bound photosensitizer.^{195,234} Therefore, its $\tau_{\text{M}0}$ is lower than that of the unused material. However, sensitizer reloading does not allow recovery of the original $\tau_{\text{M}0}$ probably because immobilization of the new RDP^{2+} molecules now occurs mainly in the hydrated surface of the material, so that deactivation of the MLCT excited-state by water will dominate. This hypothesis is supported by the fluorescence microscopy images (Figure 60), where $\sim 5 \mu\text{m}$ orange aggregates of RDP^{2+} sensitizer are clearly observed on the surface of the porous RDP/pSil–r material (Figure 60D), while the same type of clusters are seldom detected in the original RDP/pSil and RDB/pSil materials (Figures 60A and 60B; the blank pSil material of Figure 60C is included as a control). Absorption spectroscopy measurements further support this interpretation since the characteristic band in the visible region broadens on going from RDP/pSil to RDP/pSil–r and to solid sensitizer (Figure 61). These RDP^{2+} aggregates are also responsible for the longer mean emission lifetime detected in the wet RDP/pSil–r material equilibrated with air (0.57 vs. 0.48 μs , Table 14), as spatially-resolved lifetimes close to 1 μs (Figure 60F) are observed in the sites of strong emission intensity (Figure 60E) where the orange aggregates appear. The longer luminescence lifetime of the RDP^{2+} aggregates might be a consequence of the lower quenching efficiency of O_2 in the crystal lattice compared to sensitizer molecules embedded in the silicone. This result also discards the possible triplet-triplet annihilation of the photoexcited dye within the aggregates.

²³⁴ Hartmann, P. “Photochemically Induced Energy-Transfer Effects on the Decay Times of Ruthenium Complexes in Polymers”, Anal. Chem., **2000**, 72, 2828–2834.

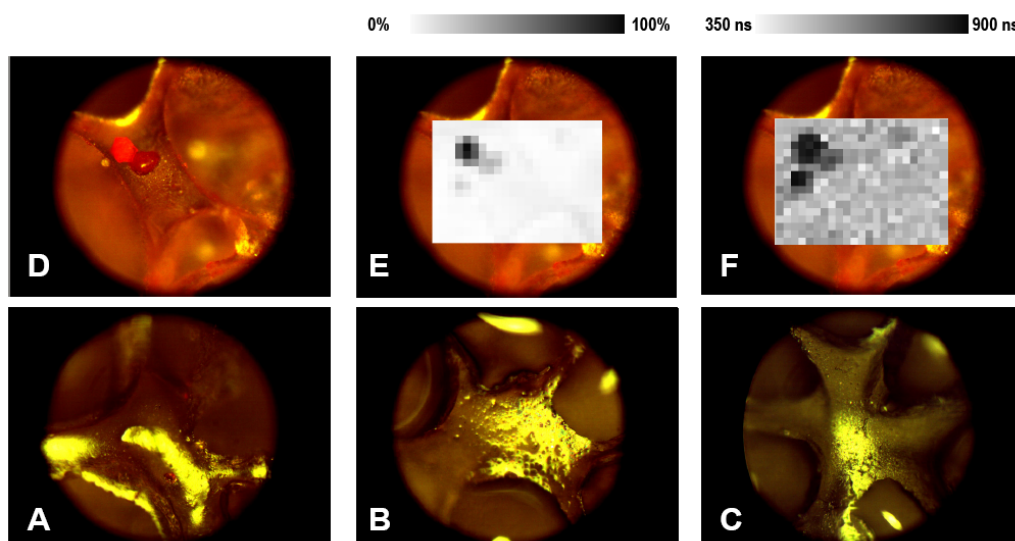


Figure 60. Bright field microscopy images (10X) of RDP/pSil, RDB/pSil and blank pSil (lower series of photographs, A, B and C, respectively) and of RDP/pSil-r (upper series of photographs, D, E and F) photosensitizing materials. Figure (E) shows a luminescence *intensity* image of RDP/pSil-r superimposed to the bright field image and Figure (F) shows a luminescence *lifetime* image of the same material superimposed to the bright field image. Both the luminescence intensity and lifetime images have been recorded using the fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) mode.

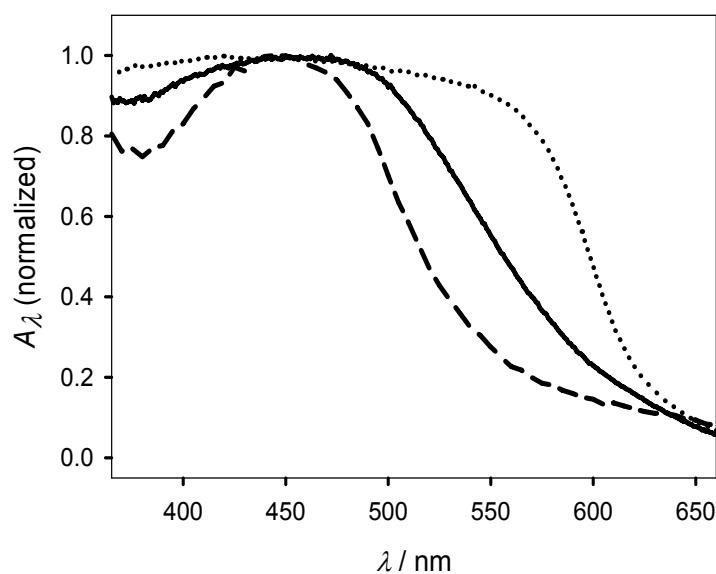


Figure 61. Normalized absorption spectra of RDP/pSil (- -), RDP/pSil-r (—) and solid RDP photosensitizer (.....).

The probability of excited-state deactivation by O_2 ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$) of the immobilized RDP^{2+} is very similar for the three investigated photosensitizing materials, within the experimental error ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}} \sim 0.75\text{--}0.85$) (Table 14). However, in the case of RDB/pSil, a

$P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$ value of *ca.* 0.60 is observed according to the shorter luminescence lifetime of RDB^{2+} compared to that of RDP^{2+} , due to the different structure of the Ru(II)–coordinating ligand (2,2'–bipyridine derivative vs. 1,10–phenanthroline derivative).²³³ Singlet oxygen emission was detected for all the photosensitizing materials prepared, and $^1\text{O}_2$ emission lifetimes in the 30–40 μs range have been observed for the wet materials equilibrated with air. No singlet oxygen emission was detected in the blank pSil polymer. Figure 62 corroborates $^1\text{O}_2$ production by three of the dyed silicones that show the characteristic decay kinetics and emission spectrum of photogenerated $^1\text{O}_2$. Figure 62A inset shows only the light scattered by the blank porous silicone upon excitation by the laser pulse. The time-resolved spectrum at the rear of Figures 62B–62D can be assigned to the $^1\text{O}_2$ emission superimposed with the tail of the RDP^{2+} luminescence in the NIR region.⁷³ Figures 62C and 62D show the emission spectra of $^1\text{O}_2$ photogenerated by RDP/pSil-a and RDP/pSil-r , respectively. Interestingly, emission lifetimes of singlet oxygen (τ_{Δ}) measured in both RDP/pSil and RDB/pSil are in the range of 35–40 μs , much longer than the value typically measured in water (*ca.* 3–4 μs) due to production of $^1\text{O}_2$ in a OH–free microenvironment. However, τ_{Δ} is slightly shorter (30 μs) when the RDP^{2+} complex has been reloaded on pSil, as a result of the presence of RDP^{2+} aggregates on the polymer surface in contact with the bulk water.

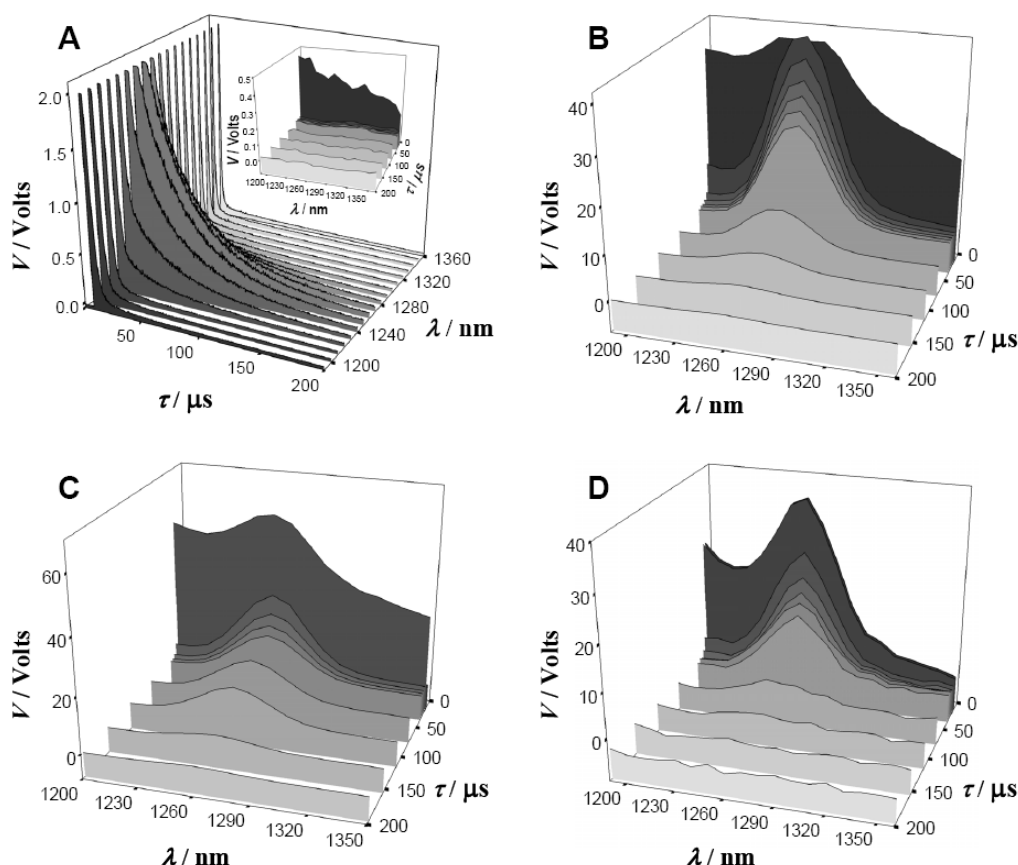


Figure 62. Emission kinetics of $^1\text{O}_2$ in a time window of 200 μs generated by 532-nm laser excitation of the RDP/pSil material (A), and the corresponding emission spectrum acquired by time-resolved emission spectroscopy (TRES) in the 1190–1360 nm range (B). Figure (A, inset) shows the absence of $^1\text{O}_2$ emission in the blank pSil polymer under the same conditions. Figures (C) and (D) display the emission spectrum of $^1\text{O}_2$ photogenerated by RDP/pSil-a and RDP/pSil-r, respectively.

3.2. Disinfection assays.

The reloaded and unused photosensitizing materials (RDP/pSil-r, RDP/pSil and RDB/pSil) were tested for water disinfection with visible light in the lab photoreactor (very slow flow rate, see [Experimental Section](#)) at two initial concentrations of *E. faecalis*, namely 10^4 and 10^3 CFU mL^{-1} (Figures 63A and 63B display typical experiments, see below). After 9 h of lamp irradiation a drop in bacteria survival of at least 3 and 2 orders of magnitude, respectively, is observed with any of the photosensitizing materials mentioned above. Therefore, all the Ru(II) $^1\text{O}_2$ photosensitizers immobilized on pSil unused or reloaded behave similarly within the experimental uncertainty and, from the point of view of bacteria inactivation efficiency, all of them show similar inactivation rates of *ca.* 13000 and 1200 CFU h^{-1} at initial bacteria concentrations of 10^4 and 10^3 CFU mL^{-1} , respectively. This result can be

explained if the $^1\text{O}_2$ production by the three materials is *not* a limiting factor in the bacteria inactivation according to the following facts: (i) pSil is highly loaded for any of the dyes; (ii) the efficiencies of quenching of the excited supported sensitizers by dioxygen are high ($P_{\text{O}_2}^T > 0.6$) thus generating enough $^1\text{O}_2$; (iii) $^1\text{O}_2$ lifetimes within the silicone (30–40 μs) are long enough to allow its diffusion far away from the photogeneration site to reach the targeted microorganisms; (iv) last but not least, the slow flow in the laboratory reactor ($\text{Re} \sim 1$) ensures an efficient contact between the ROS and the adsorbed bacteria.

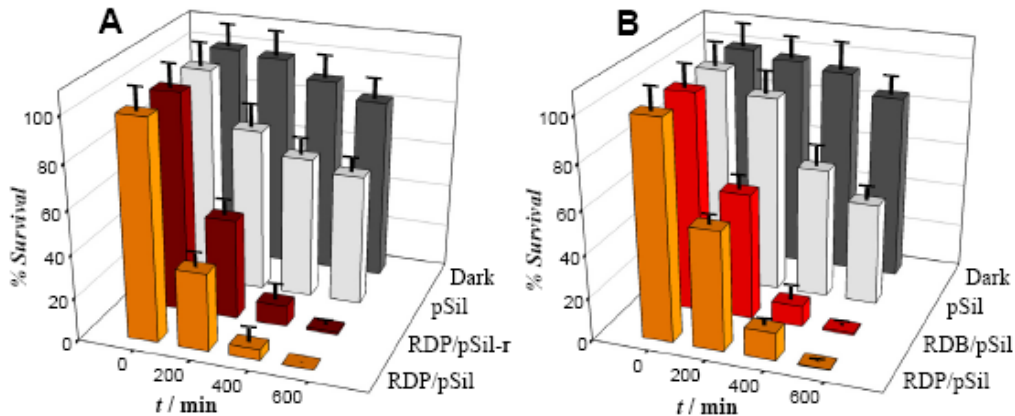


Figure 63. Evolution of 10^4 (A) and 10^3 (B) CFU mL^{-1} *E. faecalis* suspensions in water, in the presence of RDP/pSil and RDP/pSil-r (A) and RDP/pSil and RDB/pSil (B) photosensitizing materials illuminated with a 150-W Xe lamp, compared to the same experiment in the presence of blank pSil material and in the dark as control runs.

The results of solar disinfection experiments (at much faster flow rate, $\text{Re} \sim 4000$, compared to the lab-scale photoreactor) with the RDP/pSil-a, RDP/pSil-r and RDB/pSil materials using the CPC photoreactor for an initial *E. faecalis* concentration of $2 \times 10^3 \text{ CFU mL}^{-1}$ are depicted in Figure 64. After an accumulated radiation dose of *ca.* 5 MJ m^{-2} in the 360–700 nm range, the drop in the bacteria concentration is *ca.* one *log* using RDP/pSil-aged and RDB/pSil. However, disinfection is reached with the RDP/pSil-r material at a solar radiation dose of only 3 MJ m^{-2} , as results from the complete loss of bacteria culturability. For the sake of comparison, more than 8 MJ m^{-2} of sunlight (equivalent to *ca.* 6 h of insolation under our experimental conditions) are needed to reach *E. faecalis* disinfection with the original RDP/pSil material at bacteria concentrations of either 10^2 or 10^4 CFU mL^{-1} .^{138,139} As it has been discussed in a previous paper,¹³⁹ two concurrent processes are responsible for waterborne bacteria inactivation in CPC solar reactors fitted with photosensitizing silicones: a small SODIS effect and the photodynamic effect based on $^1\text{O}_2$ -induced inactivation of bacteria by the dyed pSil materials. At the *E. faecalis* concentration of $2 \times 10^3 \text{ CFU mL}^{-1}$, RDP/pSil-r shows a steeper slope in the inactivation profile than any other of the materials tested. Therefore, the results displayed in Figure 64 demonstrate the capability of the pSil-

supported RDP²⁺ to be reused by reloading the sensitizer if the photodynamic effect decreases due to photobleaching by the sunlight.

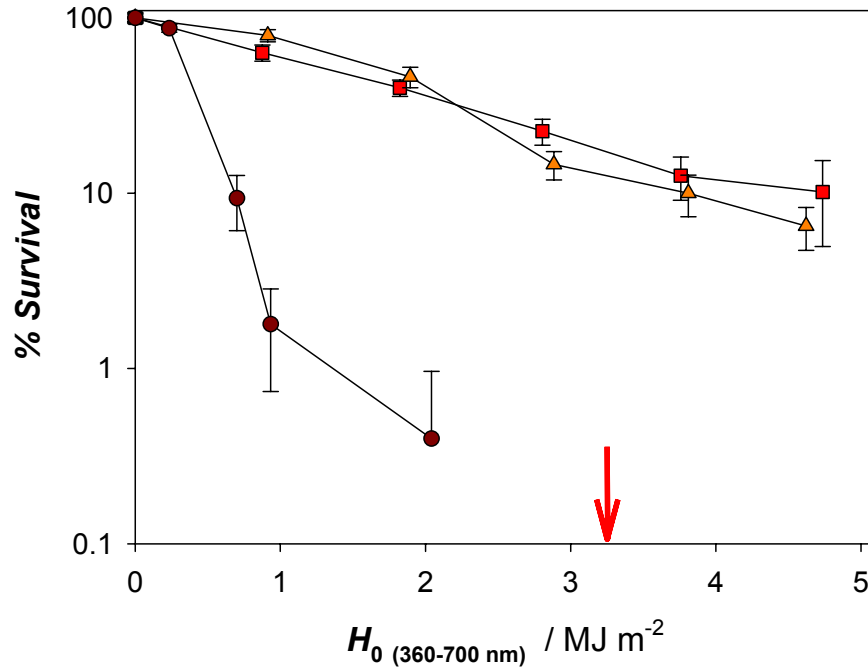


Figure 64. Inactivation under sunlight of 2×10^3 CFU mL⁻¹ *E. faecalis* with RDP/pSil-r (●), RDP/pSil-a (▲) and RDB/pSil (■) photosensitizing materials in the CPC-based solar reactor. The arrow represents complete loss of culturability of the bacteria.

In order to quantitatively compare the efficiency of RDP/pSil-a, RDP/pSil-r and RDB/pSil in the CPC prototype solar reactor, the bacteria inactivation profiles after the initial induction period have been fit to a first-order kinetics Chick-Watson model (eq. n):

$$N = N_0 e^{-kH_0} \quad (\text{n})$$

where N is the bacteria concentration (CFU mL⁻¹) during the solar experiments, k is the bacteria inactivation rate constant (MJ⁻¹ m²) and H_0 is the accumulated radiation dose in the 360–700 nm range (expressed as fluence in MJ m⁻²). According to the calculated values of k in Table 15, the reloaded RDP/pSil-r (*ca.* 2 MJ⁻¹ m²) is *ca.* 4-fold more efficient than RDP/pSil-a and RDB/pSil materials (*ca.* 0.5 MJ⁻¹ m²).

Table 15. Inactivation rate constants (from survival curves in Fig. 64) of the Ru-based photosensitizing materials irradiated with sunlight in the solar photoreactor.

	$k / \text{MJ}^{-1} \text{m}^2$	r^2
RDP/pSil^a	0.43 ± 0.08	0.95
RDP/pSil-a	0.52 ± 0.02	0.99
RDB/pSil	0.47 ± 0.07	0.94
RDP/pSil-r	2.11 ± 0.68	0.91

^a For 10^2 CFU mL^{-1} ; $k = 0.47 \pm 0.09$ for 10^4 CFU mL^{-1} . Ref. (138).

In spite of the noticeable differences in the photochemical parameters of RDP/pSil, RDP/pSil-a and RDB/pSil (τ_{M0} , τ_{M} and $P\text{O}_2^{\text{T}}$, see Table 14) and the Φ_{A} of RDP^{2+} and RDB^{2+} , the bacteria inactivation efficiency of these three photosensitizing materials is equivalent. This result has been observed in both the laboratory system and in the solar reactor notwithstanding of a higher irradiated area-to-volume ratio, radiation dose and different rheology of the latter, as Figures 63 and 64 and Table 15 show. Therefore, the three materials must produce sufficiently high $^1\text{O}_2$ levels to damage bacteria in contact with the porous polymer and, consequently, the average rate of bacteria inactivation turns out to be similar. However, although RDP/pSil-r displays comparable photochemical parameters to the parent RDP/pSil, it has proved to be significantly more efficient for the microorganism inactivation in the solar reactor prototype. Such differences of inactivation efficiency can be attributed to the distinct microenvironments of $^1\text{O}_2$ generation in the porous silicone photosensitizing materials. Taking into account the high hydrophobicity of RDP^{2+} and RDB^{2+} dyes and their homogeneous immobilization in the silicone polymer, $^1\text{O}_2$ generation occurs in a similar hydrophobic (micro)environment with RDP/pSil, RDP/pSil-a and RDB/pSil, and as consequence, the three photosensitizing materials display the same $^1\text{O}_2$ lifetime (35–40 μs) and the same bacteria inactivation rates. However, in RDP/pSil-r, the further amount of dye added to the RDP/pSil-a material forms clusters on the surface of the porous polymer, which are closer to the aqueous phase (as follows from a photogenerated $^1\text{O}_2$ lifetime of 30 μs). Therefore, the target bacteria are more accessible to the abundant surface-generated $^1\text{O}_2$ and the microorganism inactivation efficiency improves dramatically. Two additional factors help to understand the higher photodynamic effect of the sensitizer-reloaded silicone: firstly, the higher cationic density of the Ru(II) aggregates, that would help to attract bacteria towards the polymer surface;¹⁴⁰ secondly, the transitional-to turbulent water flow in the solar reactor that favors exchange of bacteria between the bulk water and the photosensitizing material allows profiting from the higher amount of $^1\text{O}_2$ generated on the surface of the reloaded support.¹³⁹

4. **CONCLUSIONS.**

Photosensitizing materials based on Ru(II) dyes immobilized on porous silicone have shown their usefulness for water disinfection using a combination of sunlight and small-area CPC reactors. Reloading of the solid support with the $^1\text{O}_2$ -generating dye can be readily performed and the reused photocatalytic materials perform even better than the original ones. This is due to the localization of the new incoming photosensitizer molecules on the outermost surface of the porous silicone polymer that increases accessibility of the lethal ROS to the silicone-bound target microorganisms. The enhanced inactivation efficiency and ease of photocatalyst recharging augments the cost-effectiveness and sustainability of the developed solar reactor and makes it competitive with POU treatments such as disinfection with UV lamps.

Acknowledgements. The authors thank the Spanish Ministry of Education and Science (CTQ2006-15610-C02-01-BQU), the Spanish Ministry of Science and Innovation (TRA2007-30965-E) and the UCM-Santander (GR58-08-910072) for supporting this project and Dr. Juan López-Gejo (UCM) for technical assistance and helpful discussions on the fluorescence lifetime imaging experiments. F. M. thanks Complutense University of Madrid for a doctoral grant.

DISCUSIÓN INTEGRADORA.

1. MATERIALES FOTOSENSIBILIZADORES.

1.1. Sensibilizadores basados en complejos de Ru(II).

Los **parámetros fotofísicos y fotoquímicos** de los materiales fotosensibilizadores de trabajo influyen en la eficiencia de generación de oxígeno singlete y, en consecuencia, determinan su capacidad para la inactivación bacteriana. Dichos parámetros son función de la estructura química de los sensibilizadores y del entorno en el que estos se encuentran.

Los materiales sensibilizadores seleccionados basados en complejos de coordinación de Ru(II) presentan una intensa **absorción de radiación UV-Vis**, gracias a sus elevados coeficientes de absorción molar, ϵ . Dichos coeficientes, en los correspondientes máximos de absorción en la región del visible, son $32400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y $31650 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 461 y 462 nm para RDP^{2+} y RSD^{4-} en disolución acuosa, respectivamente, $18300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 481 nm para RDB^{2+} en disolución hidroalcohólica (4:1 v/v) y $17300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 460 nm para RBN^{2+} disuelto en metanol. El hecho de que los sensibilizadores seleccionados presenten una intensa absorción de radiación, particularmente en la región visible del espectro, permite maximizar el aprovechamiento de la radiación solar en el intervalo operacional de 360–700 nm.

Los **máximos de absorción** y de **emisión** de los distintos fotosensibilizadores varían en función de la mayor o menor estabilización que el entorno confiere a los estados fundamental y excitado, respectivamente. De esta manera, los sensibilizadores hidrófobos RDP^{2+} , RBN^{2+} ó RDB^{2+} inmovilizados sobre silicona porosa de carácter neutro (pSil o pSil-i) presentan *máximos de absorción* a 455, 458 y 477 nm, respectivamente, mostrando un ligero desplazamiento hipsocrómico, esto es, hacia menores longitudes de onda, con respecto a sus disoluciones. En el caso de los materiales sobre silicona porosa de carácter aniónico (RDP/pSil^-) el máximo de absorción se sitúa en 444 nm. Por otra parte, el sensibilizador RSD^{4-} , de carácter marcadamente hidrófilo, mantiene su máximo de absorción en 462 nm, independientemente de si se encuentra en disolución acuosa o bien unido mediante interacciones electrostáticas a los soportes catiónicos estudiados (pSil^+ , Ny^+ , Cel^+ ó PVDF^+). Este hecho muestra que, a diferencia de lo que sucede para un sensibilizador hidrófilo como es RSD^{4-} , el estado fundamental de los complejos de carácter hidrófobo se estabiliza al ser inmovilizado sobre un soporte hidrófobo como el pSil en comparación con el medio acuoso, y esta estabilización, es aún mayor en el caso de producirse una interacción específica con un soporte como pSil^- .
















En el análisis de los *máximos de emisión*, se observa también un desplazamiento hacia menores longitudes de onda al inmovilizar los fotosensibilizadores con respecto a lo

obtenido en disolución. De esta manera, los máximos del complejo RDP^{2+} en disolución acuosa e inmovilizado sobre silicona porosa neutra se sitúan a 632 y 623 nm, respectivamente. Por otro lado, para el complejo RDB^{2+} en disolución hidroalcohólica ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 4:1 v/v) el máximo se encuentra a 630 nm y para RDB/pSil a 621 nm. En el caso del complejo RSD^{4+} , el máximo de emisión se desplaza desde 632 nm para el sensibilizador en disolución acuosa, hasta unos 600 nm para dicho complejo soportado sobre los diferentes soportes catiónicos estudiados (p. ej. 598 nm en RSD/PVDF^+ y RSD/Ny^+ , y 605 nm en el caso de RSD/pSil^+). Este comportamiento puede explicarse por la mayor estabilización del estado excitado MLCT fuertemente polar ($[\text{Ru}^{3+}(\text{L}^-)\text{L}_2]$) de los sensibilizadores por parte de disolventes polares, en comparación con el rigidocromismo y la baja polaridad relativa asociada a los polímeros sólidos. Esto conlleva que la emisión de luminiscencia desde el estado excitado de los complejos metálicos en disolución sea, comparativamente, de menor energía. Por otra parte, si se analiza el máximo de emisión de los materiales RDP/pSil^- , que se sitúa a 627 nm, éste se encuentra en una posición intermedia a los valores correspondientes a RDP^{2+} en disolución (632 nm) y a RDP^{2+} soportado sobre silicona porosa neutra (623 nm), lo cual es debido a que el sensibilizador en el material RDP/pSil^- se halla en un entorno en el que se produce un mayor contacto con la fase acuosa polar en comparación con el material RDP/pSil , teniendo en cuenta que tanto pSil^+ como pSil^- están preparados por funcionalización superficial de pSil con grupos iónicos, lo que provoca una mayor solvatación superficial del polímero. Una situación análoga se produce con el material $\text{RDP}/\text{pSil-r}$, que proviene de recargar con RDP^{2+} adicional el material RDP/pSil expuesto a más de 250 h de radiación solar, al que se denomina $\text{RDP}/\text{pSil-a}$ por el ataque sufrido por la iluminación prolongada, que provoca una cierta fotodegradación del sensibilizador. Dicho material recargado, $\text{RDP}/\text{pSil-r}$, presenta el máximo de emisión a 625 nm. Este resultado se atribuye a que el RDP^{2+} añadido se sitúa preferentemente en la superficie del polímero (Figura 60), lo que favorece nuevamente un mayor contacto con el medio acuoso y permite rebajar ligeramente la energía de su estado excitado luminiscente, desplazándose la emisión a mayores longitudes de onda, en comparación con el material RDP/pSil .

Los polímeros usados como soporte de inmovilización, entre otras muchas características, deben proporcionar robustez suficiente al material fotosensibilizador pero sin que ello suponga una merma o se vean afectadas significativamente las cualidades operativas de los fotosensibilizadores. Una vez examinadas las propiedades espectroscópicas de los diferentes materiales sensibilizadores, se debe comprobar que los soportes poliméricos estudiados permiten un buen aprovechamiento fotónico por parte de los complejos metálicos. Con objeto de discutir y seleccionar los polímeros de soporte, así como los materiales fotosensibilizadores más adecuados para llevar a cabo el proceso de fotodesinfección de agua, a continuación se condensan diferentes parámetros que caracterizan a los materiales sensibilizadores de trabajo, como son la carga de complejo de Ru(II) incorporada sobre el polímero, el tiempo de vida promedio

con pesada preexponencial (τ_M y τ_{M0}) del estado excitado de los diferentes sensibilizadores inmovilizados, la fracción de estados excitados del fotosensibilizador que son desactivados por O_2 ($P_{\text{O}_2}^T$), así como el tiempo de vida del oxígeno singlete (τ_Δ) generado por parte de los materiales de trabajo (Tabla 16).

Tabla 16. Carga de fotosensibilizador y caracterización fotofísica y fotoquímica de los materiales fotosensibilizadores.

Material		Carga	τ_{M0} (μs)	τ_M (μs)	k_q^a ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	$P_{\text{O}_2}^T{}^b$	τ_Δ (μs)
RSD/CeI ⁺		0,6 g m ⁻²	4,0	2,92	4,0 x 10 ⁸	0,27	3,4
RSD/Ny ⁺		0,4 g m ⁻²	4,2	2,06	9,5 x 10 ⁸	0,51	4,2
RSD/PVDF ⁺		92 g m ⁻²	3,3	3,14	6,7 x 10 ⁸	0,05	3,5
RSD/pSil ⁺		30 mg m ⁻²	1,3	0,63	3,6 x 10 ⁹	0,49	25
RBN/pSil-i		13 mg g ⁻¹	0,3	0,19	8,4 x 10 ⁹	0,36	33
RDP/pSil-i		3 mg g ⁻¹	2,4	0,46	7,6 x 10 ⁹	0,81	36
RDB/pSil		1,5 g m ⁻²	0,75	0,27	9,8 x 10 ⁹	0,64	35
RDP/pSil		0,85 g m ⁻²	3,2	0,51	7,3 x 10 ⁹	0,84	^c
RDP/pSil		2,0 g m ⁻²	3,1	0,48	7,7 x 10 ⁹	0,84	40
RDP/pSil-a		< 2,0 g m ⁻²	2,4	0,45	7,8 x 10 ⁹	0,81	35
RDP/pSil-r		0,3 g m ⁻² ^d	2,5	0,57	5,9 x 10 ⁹	0,77	30
L-RDP/pSil ⁻		0,75 g m ⁻²	1,3	0,83	1,9 x 10 ⁹	0,37	30
M-RDP/pSil ⁻		1,15 g m ⁻²	1,9	0,49	6,6 x 10 ⁹	0,74	30
H-RDP/pSil ⁻		4,40 g m ⁻²	3,5	0,41	9,4 x 10 ⁹	0,88	32
H-RDP/pSil ⁻ ^e		<< 4,40 g m ⁻²	1,5	0,66	3,7 x 10 ⁹	0,56	30

^a Parámetro estimado a partir de las ecuaciones (g) y (h) donde, de acuerdo con la ley de Henry, $[\text{O}_2] \sim 2,3 \times 10^{-4}$ M en medio acuoso en condiciones ambientales (25° C y 950 mb).

^b Parámetro calculado a partir del tiempo de vida medio de emisión del estado excitado de sensibilizador, τ_M . De acuerdo con la ecuación (f), el parámetro $P_{\text{O}_2}^T$ también puede estimarse a partir de la intensidad de emisión de luminiscencia de los fotosensibilizadores excitados, I (ver Tablas 10, 12 y 14).

^c No determinado.

^d Masa adicional de RDP²⁺ añadida sobre RDP/pSil-a durante el proceso de recarga.

^e Material sometido a 8 procesos de tratamiento en autoclave.

A través del estudio espectroscópico de los diferentes sobrenadantes resultantes de los procesos de inmovilización de los materiales sensibilizadores y acondicionamiento de los mismos, se pueden estimar las cantidades de complejo metálico incorporado en los diferentes polímeros de soporte o **carga de fotosensibilizador**. Así, la cantidad de sensibilizador catiónico inmovilizado por adsorción sobre pSil (equiparable a la correspondiente a pSil-i) corresponde, de manera reproducible, en condiciones de saturación y en términos macroscópicos, a 1,5 y 2,0 g m⁻² para los complejos hidrófobos RDB²⁺ y RDP²⁺, respectivamente. De manera análoga, la cantidad de RDP²⁺ adicionada sobre el material previamente usado (RDP/pSil-a) para dar lugar a RDP/pSil-r, es de unos 0,3 g m⁻². Las cantidades de complejo pueden ser incrementadas en el caso de emplear pSil funcionalizado, de manera que se han conseguido inmovilizar hasta unos 4 g m⁻² de RDP²⁺ sobre pSil⁻. En el caso de que el fotosensibilizador sea aniónico y presente gran carácter hidrófilo, como es el caso de RSD⁴⁻, la carga de complejo inmovilizado es variable en función su afinidad por los soportes, aunque limitada por lo general, excepto en el caso del polímero PVDF⁺. Sirvan como ejemplos comparativos la ausencia de inmovilización de RSD⁴⁻ sobre un soporte muy hidrófobo como pSil y los escasos 0,03 g m⁻² de sensibilizador inmovilizado sobre pSil⁺. Por otra parte, independientemente del soporte funcionalizado empleado para inmovilizar RSD⁴⁻, su marcada hidrofilia provoca su lavado al medio acuoso externo con facilidad.

En todos los casos, se ha intentado trabajar con las mayores cargas posibles de sensibilizador inmovilizado, con objeto de maximizar la cantidad de $^1\text{O}_2$ fotogenerado.

El **tiempo de vida** del estado excitado triplete de los sensibilizadores inmovilizados, determinado como valor promedio mediante pesada preexponencial (τ_M), ha de ser lo suficientemente elevado como para permitir una óptima desactivación del estado excitado del fotosensibilizador por colisión con las moléculas de O_2 , lo cual se comprueba por la variación significativa de los tiempos de vida en función de la presencia o ausencia de O_2 (τ_M y τ_{M0} , respectivamente).

Los tiempos de vida del estado excitado son función de la estructura de los fotosensibilizadores y del entorno que rodea a los mismos. Por una parte, cuanto más extensa sea la estructura aromática de los ligandos que complejen el ión Ru(II), mayor tiempo de vida tendrá su correspondiente estado excitado. De esta manera, los valores de τ_{M0} determinados mediante ajuste multiexponencial para RBN²⁺, RDB²⁺ y RDP²⁺, sensibilizadores con creciente estructura aromática en sus ligandos (Figura 18), son 0,30, 0,75 y 3,10 μs , respectivamente, cuando se inmovilizan sobre sílica porosa de carácter neutro. Por este motivo, los fotosensibilizadores como RDP²⁺ o RSD⁴⁻ basados en la estructura de 1,10-fenantrolina muestran, por lo general, mejores propiedades fotosensibilizadoras que aquellos como RDB²⁺ o RBN²⁺, basados en la estructura de 2,2'-bipiridina. En consecuencia, los complejos de Ru(II) presentan como ventaja inherente la posibilidad de modulación de sus propiedades fotosensibilizadoras en función de una adecuada elección de sus ligandos.

Por otra parte, la disposición de los sensibilizadores en diferentes entornos dentro de los polímeros, discutida anteriormente en función de la variación de los máximos de absorción y de emisión, puede confirmarse al analizar los tiempos de vida de emisión. Así, el parámetro τ_{M0} varía en función de la capacidad del entorno para desactivar los estados excitados por vías no radiantes, en ausencia de oxígeno molecular en el medio. Por ello, los valores característicos de τ_{M0} correspondientes a un sensibilizador aniónico e hidrófilo como es el RSD^{4-} , inmovilizado sobre polímeros de carácter hidrófilo como Ny^+ , Cel^+ o, en menor medida, PVDF^+ (Tabla 16), no se ven afectados de una manera significativa con respecto al tiempo de vida medido en disolución en fase acuosa ($\tau_T = 3,8 \mu\text{s}$).²³³ De manera general, un entorno acuoso propicia la disminución del valor de τ_{M0} con respecto a un medio orgánico, al verse favorecida la desactivación del estado excitado de los sensibilizadores por acoplamiento con los modos de vibración de los enlaces O–H del disolvente, en comparación con la ausencia de este oscilador en los polímeros estudiados.

Cuando los sensibilizadores se inmovilizan en los polímeros de silicona porosa, donde los microentornos alrededor del sensibilizador de Ru(II) son muy distintos respecto al medio acuoso, se observan valores de τ_{M0} para el sensibilizador RDP^{2+} que varían entre $3,2 \mu\text{s}$ en pSil y $2,4 \mu\text{s}$ en pSil-i . En el caso de RDP^{2+} unido a pSil^- , a diferencia de lo que sucede en el caso del polímero de carácter neutro, el valor de τ_{M0} es muy dependiente de la cantidad de sensibilizador inmovilizado, variando entre $3,5 \mu\text{s}$ a altas cargas ($4,4 \text{ g m}^{-2}$) y $1,3 \mu\text{s}$ a bajas cargas ($0,75 \text{ g m}^{-2}$).

Por otra parte, a medida que el material RDP/pSil es expuesto a la radiación solar, se observa una cierta fotodegradación a través de la reducción en su señal de emisión característica (Figura 54), lo cual, al cabo de 250 h de irradiación (RDP/pSil-a), origina que τ_{M0} disminuya desde los $3,1 \mu\text{s}$ medidos para el material recién preparado hasta $2,4 \mu\text{s}$. Considerando que los valores de τ_{M0} tienden a ser mayores en los entornos más hidrófobos, donde además la desactivación por el oxígeno molecular del estado excitado del sensibilizador será también más eficaz (redundando en una mayor facilidad para la producción de $^1\text{O}_2$ en dichos entornos más hidrófobos), cabe esperar que los procesos de fotodegradación ocurran preferencialmente sobre las moléculas de sensibilizador situadas en tales entornos más hidrófobos, protegidos del medio acuoso. De esta manera, el valor de τ_{M0} asociado a RDP/pSil-a disminuye con la fotodegradación del sensibilizador en el polímero, al aumentar la proporción relativa de moléculas de RDP^{2+} en contacto más íntimo con el entorno acuoso. Por este mismo motivo, cuando se añaden $0,3 \text{ g m}^{-2}$ de RDP^{2+} sobre RDP/pSil-a , el valor de τ_{M0} observado es $2,5 \mu\text{s}$, en lugar de a los $3,1 \mu\text{s}$ asociados al material RDP/pSil original, debido a que el complejo de Ru(II) añadido se dispone, preferencialmente, en los entornos más superficiales del polímero (Figura 60). Sin embargo, la gran influencia del entorno sobre el parámetro τ_{M0} se hace aún más evidente al analizar el aumento de su valor a medida que se incrementa la cantidad de RDP^{2+} inmovilizado sobre pSil^- , así como su disminución a medida que el complejo RDP^{2+} se lava del material pSil^- a causa

de los procesos de tratamiento en autoclave. De esta manera, mientras que el material RDP/pSil presenta un valor de τ_{M0} independiente de su carga (en torno a 3 μs), los materiales L-RDP/pSil $^-$, M-RDP/pSil $^-$ y H-RDP/pSil $^-$, cuya denominación hace alusión a su respectiva carga baja, media y alta de sensibilizador (0,75, 1,15 y 4,40 g m^{-2}), presentan valores de τ_{M0} igual a 1,3, 1,9 y 3,5 μs , respectivamente (Tabla 16). Mientras que el entorno en el que se dispone el sensibilizador en el material de silicona neutra es independiente de la cantidad de complejo incorporada, en los materiales de trabajo basados en pSil $^-$ la inmovilización a bajas cargas de complejo se produce preferencialmente en dominios superficiales de carácter iónico y, a medida que la cantidad de complejo inmovilizado aumenta, éste se dispone progresivamente en microentornos más hidrófobos del material poroso de silicona. El hecho de que el complejo se sitúe progresivamente en entornos más hidrófobos y protegidos del medio acuoso implica valores de τ_{M0} cada vez más altos, lo que se corrobora al observar una evolución opuesta de dicho parámetro a medida que el material H-RDP/pSil $^-$ se somete a procesos de esterilización en autoclave, los cuales conducen al lavado progresivo de complejo inmovilizado (Tabla 13).

Por su parte, la eficacia de la desactivación del estado excitado triplete de los sensibilizadores por parte del O_2 , directamente relacionada con **la constante de desactivación bimolecular** del estado excitado de los sensibilizadores por el oxígeno molecular (k_q), hace que los valores de τ_M observados varíen en función de la cantidad de O_2 presente en el medio. Analizando el caso del complejo RDP $^{2+}$, el valor de τ_M de 0,45–0,50 μs que presenta en silicona porosa neutra, que se mantiene para el caso de RDP/pSil–a (0,45 μs), se incrementa hasta 0,57 μs para el material RDP/pSil–r. La adsorción sin formación de agregados es la forma principal de inmovilización del RDP $^{2+}$ sobre el polímero de silicona porosa, en el que la solubilidad del O_2 es un orden de magnitud superior a la correspondiente al medio acuoso mientras que la difusión del oxígeno molecular es comparable en ambos medios. Sin embargo, en el caso de RDP/pSil–r, una parte de los 0,3 g m^{-2} de RDP $^{2+}$ adicionales se disponen en forma de agregados superficiales, tal y como se puede observar mediante imágenes de microscopía óptica (Fig. 60D). La aparición de cristales de complejo en la superficie del polímero conduce a que la eficiencia de la desactivación del estado excitado de las moléculas de sensibilizador agregado por parte del oxígeno molecular disminuya, dado que los valores de k_q se reducen desde en torno a $7,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en los materiales sin formación de agregados de RDP $^{2+}$ basados en silicona neutra hasta unos $6 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en el caso de RDP/pSil–r. De hecho, en los cristales de RDP $^{2+}$ se detectan unos tiempos de vida próximos a 1 μs , muy superiores a los valores de $\tau_M \sim 0,5 \mu\text{s}$ correspondientes al complejo adsorbido (Fig. 60F), lo que incrementa el valor ponderado de τ_M para el material recargado.¹⁴¹

Al considerar los materiales basados en pSil funcionalizado con grupos aniónicos, los valores de τ_M se muestran, nuevamente, muy dependientes de la cantidad de RDP $^{2+}$ inmovilizado. En este sentido, mientras que los materiales basados en silicona neutra

presentan un valor de $\tau_M \sim 0,5 \mu\text{s}$, así como un valor de k_q en torno a $7,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, independientemente de su carga, en los materiales RDP/pSi $^-$ los valores de τ_M disminuyen, en relación inversa con los valores de k_q , a medida que aumenta la cantidad de fotosensibilizador (τ_M : 0,83, 0,49 y 0,41 μs , k_q : $1,9 \times 10^9$, $6,6 \times 10^9$ y $9,4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, para L-RDP/pSi $^-$, M-RDP/pSi $^-$ y H-RDP/pSi $^-$, respectivamente). En los materiales de trabajo basados en pSi $^-$ no aparecen microcristales de sensibilizador (Fig. 56), por lo que se puede asumir una disposición del fotosensibilizador en microentornos más protegidos respecto al medio acuoso a medida que aumenta la cantidad de complejo incorporada, lo que da lugar a valores de τ_{M0} cada vez más altos, valores cada vez más bajos de τ_M y mayores valores de k_q por la mayor solubilidad del O_2 en los dominios internos del polímero en comparación con la que corresponde en fase acuosa. Por otro lado, los polímeros funcionalizados con grupos catiónicos (Cel $^+$, Ny $^+$ y PVDF $^+$) presentan valores de k_q un orden de magnitud inferiores a las siliconas porosas estudiadas, por lo que las moléculas de sensibilizador en estado excitado son desactivadas de manera menos eficiente en estos polímeros catiónicos, lo que redundará en una menor efectividad de producción de $^1\text{O}_2$.

En relación directa con todo lo anterior, la influencia sobre τ_{M0} y k_q de la propia estructura de los sensibilizadores y de los (micro)entornos del polímero en los que estos se disponen, repercute en los correspondientes valores de las fracciones o probabilidades de estados excitados de sensibilizador que son desactivados por O_2 , $P\text{O}_2^T$, parámetro directamente relacionado con el rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete (Φ_Δ). Para una buena producción de $^1\text{O}_2$ por parte de los materiales fotosensibilizadores, tanto el valor de τ_{M0} del estado excitado de los sensibilizadores como el valor de sus $P\text{O}_2^T$ deben ser cuantitativamente elevados. A partir de lo observado en la Tabla 16 para los complejos inmovilizados en silicona porosa de carácter neutro, el valor de $P\text{O}_2^T$ aumenta al incrementar el grado de conjugación de los ligandos poliazaheterocíclicos de los sensibilizadores ($P\text{O}_2^T$ en torno a 0,35 para RBN $^{2+}$, $\sim 0,65$ para RDB $^{2+}$ y entre 0,80–0,85 μs para RDP $^{2+}$) y disminuye en microentornos con menor permeabilidad al O_2 y/o que favorezcan la desactivación del estado excitado de los fotosensibilizadores por causas distintas a la presencia de oxígeno ($P\text{O}_2^T \sim 0,85$ para RDP/pSi frente a $P\text{O}_2^T \sim 0,75$ para RDP/pSi-r con agregados microcristalinos de sensibilizador). Esto explica los elevados valores de dicho parámetro en materiales fotosensibilizadores basados en un soporte como pSi neutro, que no favorece los procesos de desactivación del triplete del sensibilizador y que presenta una elevada permeabilidad al O_2 . Asimismo, esta hipótesis permite explicar el incremento de $P\text{O}_2^T$ en los materiales basados en pSi funcionalizado aniónicamente a medida que aumenta la cantidad de fotosensibilizador inmovilizado en los dominios internos más hidrófobos que, por el contrario, tiende a disminuir a medida que los procesos de esterilización en autoclave conducen al lavado de material sensibilizador (Tablas 13 y 16).

La gran influencia del entorno en el que se sitúan los fotosensibilizadores sobre los valores de $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$ también se pone de manifiesto cuando se inmoviliza el complejo RSD^{4-} en polímeros catiónicos de estructura variable. Mientras que en medio homogéneo los sensibilizadores RSD^{4-} y RDP^{2+} muestran propiedades fotofísicas y fotoquímicas equivalentes,⁷³ sin embargo, los valores de $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$ asociados al sensibilizador aniónico inmovilizado sobre los diferentes polímeros catiónicos varían notablemente desde $P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 0,05$ para RSD/PVDF^+ ó $P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 0,27$ para RSD/Cel^+ , hasta alcanzar valores en torno a 0,50 para RSD/Ny^+ , y tienden a ser bajos, de acuerdo con los bajos valores relativos de k_q descritos para estos materiales ($k_q = 6,7 \times 10^8$, $4,0 \times 10^8$ y $9,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente, [Tabla 16](#)). Por otra parte, y en relación con el soporte de silicona funcionalizada de carácter catiónico, el material RSD/pSil^+ muestra un valor más elevado de k_q ($3,6 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), con lo que, si bien la desactivación de RSD/pSil^+ por O_2 es moderada ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}} = 0,49$), resulta comparable con la del RDP/pSil^- con bajo contenido de RDP^{2+} (L-RDP/pSil^- o bien H-RDP/pSil^- sometido a varios procesos de tratamiento en autoclave, ver [Tabla 16](#)).

La eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$ por parte de los fotosensibilizadores se cuantifica a través de los correspondientes rendimientos cuánticos de producción de $^1\text{O}_2$, Φ_{Δ} . Dichos rendimientos están directamente relacionados, de acuerdo con la [ecuación \(b\)](#), con el rendimiento cuántico de cruce intersistemas, Φ_{CIS} , la fracción de estados excitados de sensibilizador que son desactivados por O_2 , $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$, y la fracción de estados excitados que son desactivados por O_2 para dar lugar a $^1\text{O}_2$, f_{Δ}^{T} . En el caso de los complejos de Ru(II) aquí estudiados, $\Phi_{\text{CIS}} = 1$,⁷³ los valores de $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$, recogidos en la [Tabla 16](#), son mayores de 0,5 para los complejos RDB^{2+} , RDP^{2+} y RSD^{4-} inmovilizados en pSil neutro o iónico y, en cuanto al parámetro f_{Δ}^{T} , su valor es similar para un medio dado, como por ejemplo la silicona porosa.⁷³ De lo anterior se desprende que, dado un mismo (micro)entorno que condiciona el valor de f_{Δ}^{T} para los distintos complejos de trabajo, los correspondientes valores de Φ_{Δ} dependerán únicamente de su estructura intrínseca a través de sus respectivos valores de $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$.

Mediante experimentos de atrapamiento del $^1\text{O}_2$ fotogenerado con imidazol,¹⁹⁰ ha sido posible determinar los valores operacionales del rendimiento cuántico de producción de $^1\text{O}_2$ que difunde al medio acuoso externo ($\Phi_{\Delta\text{op}}$). El valor de $\Phi_{\Delta\text{op}}$ estimado para RDP/pSil es $2,0 \times 10^{-3}$, mientras que para RDB/pSil es $0,8 \times 10^{-3}$. Por tanto, teniendo en cuenta el criterio de la eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$, el material RDP/pSil se muestra como un mejor material fotosensibilizador en comparación con RDB/pSil .

Por otro lado, es necesario considerar que, desde el punto de vista de la fotoestabilidad, el sensibilizador RDB^{2+} presenta unas mejores características frente a RDP^{2+} y RSD^{4-} , lo cual viene dado, nuevamente, por la estructura química de los fotosensibilizadores.¹³⁹ Los ligandos basados en 2,2'-bipiridina (como en RDB^{2+}) no poseen el puente etilénico entre C5 y C6 característico de los ligandos derivados de 1,10-fenantrolina (en RDP^{2+} ó RSD^{4-}), por lo que estos últimos complejos son más susceptibles de ser atacados por el

propio $^1\text{O}_2$ fotogenerado. Este hecho explica la mayor degradación con la exposición solar en el caso del material RDP/pSil, que conduce a una mayor reducción en la señal de emisión característica en relación con RDB/pSil (Figura 54). Ambos materiales, al ser expuestos a la radiación solar, muestran una progresiva reducción en dicha señal, lo que indica fenómenos de fotodegradación, si bien ambos materiales alcanzan un valor en su señal de emisión que tiende a ser constante a tiempos largos de irradiación. Para RDB/pSil y RDP/pSil, ambos valores se sitúan, respectivamente, en un 50% y un 20% de sus correspondientes señales iniciales (Figura 54). Por tanto, aunque el valor de $\Phi_{\Delta\text{op}}$ medido para RDP/pSil es aproximadamente el doble que para el RDB/pSil, la señal de luminiscencia remanente correspondiente al complejo de rutenio en el material RDB/pSil tiene un valor cercano al doble que para RDP/pSil. Por tanto, y desde un punto de vista operacional, ambos materiales muestran unas prestaciones válidas de cara a llevar a cabo los procesos de desinfección (RDP/pSil produce $^1\text{O}_2$ más eficientemente pero RDB/pSil es más fotoestable).

Por otra parte, y de forma complementaria a la eficiencia de fotogeneración de $^1\text{O}_2$, es necesario analizar el tiempo de vida del oxígeno singlete generado por parte de los materiales fotosensibilizadores de trabajo, τ_{Δ} . La eficiencia de los procesos de inactivación bacteriana objeto de este estudio requieren no sólo una eficiente producción de esta especie reactiva, sino que ésta debe tener un tiempo de vida suficientemente largo, que le permita interaccionar eficazmente con la pared externa de los microorganismos próximos a los sitios en que se genera.

El oxígeno singlete se puede detectar a través de su señal de luminiscencia característica en la región del infrarrojo cercano, pues presenta una banda de emisión centrada a 1270 nm, lo que permite la determinación de τ_{Δ} mediante un análisis cinético de la señal de emisión. Se ha de comentar que, en el caso de utilizar complejos de Ru(II) como sensibilizadores, es necesario llevar a cabo un ajuste multiexponencial del perfil de extinción de la emisión del $^1\text{O}_2$ con el tiempo, dado que el espectro de emisión del $^1\text{O}_2$ solapa parcialmente con la cola de la banda de emisión de los complejos de rutenio y hay que discriminar la parte de la emisión que corresponde al fotosensibilizador excitado detectada a tiempos de vida de emisión más cortos, frente a los valores más largos característicos del $^1\text{O}_2$. Por otra parte, el tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ se encuentra muy afectado por el entorno en el que éste se genera, por lo que su medida se lleva a cabo con los materiales sensibilizadores húmedos, puesto que son las condiciones de trabajo en las que se han de realizar las pruebas de fotodesinfección. Teniendo en cuenta dichas consideraciones, mientras que para los materiales basados en polímeros como Cel⁺, Ny⁺ ó PVDF⁺ se detectan unos valores de τ_{Δ} de 3–4 μs , que son coincidentes con los valores de τ_{Δ} en medio acuoso, en los materiales basados en siliconas porosas se determinan tiempos de vida que son un orden de magnitud superiores (Tabla 16). Esto se debe al marcado carácter hidrófilo de los polímeros catiónicos derivados de celulosa, nylon y polivinilideno y a la eficaz desactivación del $^1\text{O}_2$ por acoplamiento vibracional con los enlaces O–H del disolvente en comparación

con el entorno hidrófobo que supone el polímero de silicona. Por su parte, mientras que los materiales RDP/pSil ó RDB/pSil muestran valores de τ_{Δ} entre 35–40 μs , el valor de tiempo de vida del oxígeno singlete asociado a RDP/pSil-r ó a los materiales basados en pSil funcionalizado baja hasta unos 25–30 μs , debido a que el sensibilizador está dispuesto en microentornos más superficiales e hidrófilos, en contacto más íntimo con la fase acuosa, lo que favorece la desactivación del $^1\text{O}_2$ en comparación con los materiales originales basados en pSil. En este sentido, las moléculas de sensibilizador inmovilizadas en regiones más externas serán siempre menos susceptibles de reaccionar con el oxígeno singlete fotogenerado por ellas mismas, dado que el tiempo de vida de esta especie reactiva disminuye hasta en un orden de magnitud en los entornos más hidrófilos, lo que redundará en una mayor fotoestabilidad del material. De hecho, las diferencias en los valores de τ_{Δ} observadas en los materiales RDP/pSil y RDP/pSil-a, están en concordancia con las diferencias previamente analizadas entre sus correspondientes valores del parámetro τ_{M0} .

No obstante, en todos los casos se comprueba que los materiales sensibilizadores basados en siliconas porosas permiten que el oxígeno singlete fotogenerado posea tiempos de vida cuantitativamente elevados en comparación con los valores típicamente observados en medio acuoso, lo que es deseable desde el punto de vista de la interacción eficaz entre esta especie reactiva del oxígeno con los microorganismos que se propone inactivar, por permitir una mayor difusión del $^1\text{O}_2$ generado. Independientemente de las propiedades fotoquímicas de los diferentes complejos de Ru(II), los materiales basados en silicona porosa se confirman, por tanto, como buenos soportes para la preparación de materiales fotosensibilizadores, dado que, además, presentan una excelente permeabilidad al O_2 con respecto a los polímeros alternativos estudiados, como se discutió en el [apartado 2](#) de la parte de [Desarrollo Experimental](#).

1.2. Sensibilizadores basados en fullereno.

La otra familia de sensibilizadores seleccionados para llevar a cabo los estudios de fotodesinfección están basados en la estructura de C_{60} , un eficiente sensibilizador de $^1\text{O}_2$. Alternativamente, dado que el fullereno es, en general, una especie de solubilidad muy limitada en buena parte de disolventes, una vía habitual para aumentar su grado de solubilidad consiste en la modificación de su estructura química. En este sentido se ha preparado un derivado de fullereno con grupos funcionales amino, el MPF.¹⁰¹ Debido a las óptimas propiedades operativas descritas para los materiales de silicona porosa, se seleccionaron estos polímeros como soporte para la inmovilización de fullereno. Si bien el C_{60} puede solubilizarse en disolventes como el tolueno, el contacto entre C_{60} solubilizado en tolueno y silicona no ha conducido a una inmovilización cuantitativa del fullereno mediante interacciones hidrófobas, a diferencia de lo que sucede con los complejos de Ru(II) en disolución hidroalcohólica o con el propio MPF disuelto en cloroformo en contacto con pSil. Por este motivo, el método de inmovilización empleado para la preparación de C_{60} /pSil ha consistido en el atrapamiento de este

fotosensibilizador en la matriz polimérica de pSil. Para ello, se procede a expandir el material poroso de silicona manteniéndolo en contacto con diclorometano durante unos 30 min, tras lo cual el soporte se sumerge en una disolución agitada de C_{60} en tolueno durante 30 min. Al producirse un fenómeno de expansión seguido de otro de contracción por parte del material de silicona, el fullereno queda atrapado en el pSil, lo que constituye un proceso reproducible de inmovilización cuasi-instantánea. Por otra parte, la cantidad de sensibilizador soportada en el material de silicona es proporcional a la concentración de C_{60} en disolución, de manera que empleando concentraciones próximas al límite de solubilidad del fullereno en tolueno, se consigue una carga de hasta 3 g m^{-2} . Hay que destacar que, a través de imágenes de campo en escala micrométrica, siempre se puede observar la aparición de agregados cristalinos de C_{60} embebidos en la superficie del polímero (Figs. 65B, C), lo que no es habitual cuando el MPF ó los complejos de Ru(II) se inmovilizan por adsorción sobre pSil (Figs. 65D–F).

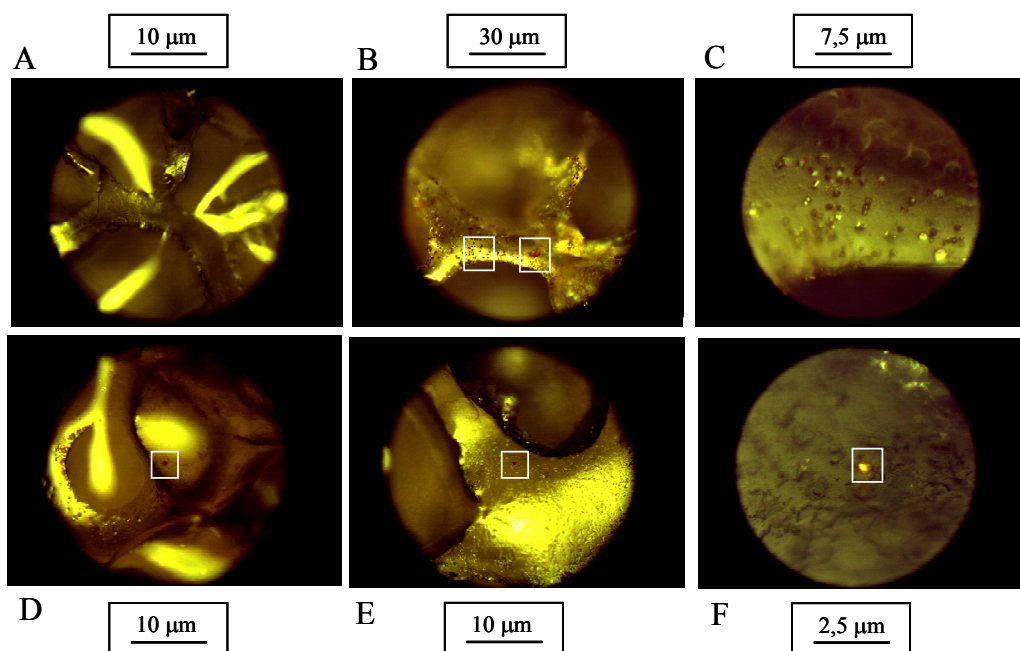







Figura 65. Imágenes de microscopía óptica de pSil (A, 10X), C_{60} /pSil conteniendo 1 g m^{-2} de sensibilizador (B; detalles de cristales de $\varnothing \sim 1\text{--}2 \text{ }\mu\text{m}$ –izquierda- y de un cristal de $\varnothing \sim 5 \text{ }\mu\text{m}$ –derecha-, 10X; C, 40X), RDP/pSil (D; detalle de un cristal de $\varnothing \sim 1 \text{ }\mu\text{m}$ de RDP^{2+} , 10X) y MPF/pSil (E y F, 10X y 40X, respectivamente; detalles de un cristal de MPF de $\varnothing \sim 0,5 \text{ }\mu\text{m}$).

De manera análoga a la discusión llevada a cabo con los complejos de Ru(II), a continuación se recogen los diferentes parámetros fotofísicos y fotoquímicos de los distintos materiales sensibilizadores basados en fullereno (Tabla 17).

Tabla 17. Propiedades fotofísicas y fotoquímicas de los materiales fotosensibilizadores: carga de sensibilizador, tiempo de vida del estado excitado de los sensibilizadores inmovilizados en ausencia y presencia de O_2 (τ_{T_0} y τ_{T} , respectivamente), fracción de estados excitados de sensibilizador desactivados por O_2 ($P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$) y tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ generado (determinado, según el caso, a partir del ajuste monoexponencial de su emisión de fosforescencia a 1270 nm, τ_{Δ} , o a partir de un ajuste multiexponencial, en cuyo caso se muestran las componentes individuales, $\tau_{\Delta i}$, y sus correspondientes factores preexponenciales, B_i).

<i>Material</i>		<i>Carga</i>	$\tau_{\text{T}_0} / \mu\text{s}$	$\tau_{\text{T}} / \mu\text{s}$	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}^a}$	$\tau_{\Delta} / \mu\text{s}$		
						$\tau_{\Delta 1}$ (% B_1)	$\tau_{\Delta 2}$ (% B_2)	$\tau_{\Delta 3}$ (% B_3)
C₆₀/pSil		1,0 g m ⁻²	<i>b</i>	5 ^c	<i>b</i>	25 (60)	154 (29)	2250 (11)
		1,5 g m ⁻²	<i>b</i>	5 ^c	<i>b</i>	33 (41)	264 (29)	3005 (30)
		3,0 g m ⁻²	<i>b</i>	5 ^c	<i>b</i>	84 (9)	1308 (9)	4693 (82)
MPF/pSil		0,5 g m ⁻²	2,7 ^d	2	0,26 ^d	47		
MPF/pSil⁻		1,5 g m ⁻²	2,7 ^d	2	0,26 ^d	43		

^a Parámetro estimado a partir de los tiempos de vida de emisión del estado excitado del sensibilizador, τ_{T} y

τ_{T_0} .

^b No determinado.

^c Valor determinado para C₆₀ homogéneamente distribuido en el seno de un material de silicona equivalente a pSil (prepolímero de silicona disuelto en tolueno, 1-2577, Dow Corning, MI).

^d Valores determinados para MPF disuelto en cloroformo, donde también se detecta un valor de $\tau_{\text{T}} \sim 2 \mu\text{s}$.

Los sensibilizadores basados en fullereno poseen una amplia **absorción de radiación UV-Vis**, especialmente intensa en la región UV ($\epsilon_{335} = 54180 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y $\epsilon_{284} = 60185 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para C₆₀ y MPF disueltos en tolueno y cloroformo, respectivamente). A partir de estos datos y de la medida del espectro de absorción de las disoluciones sobrenadantes, se pueden estimar las correspondientes **cargas de sensibilizador** contenidas en los distintos materiales preparados, que para el caso de C₆₀/pSil suponen 3 g m⁻² en condiciones próximas a la saturación, y 0,5 y 1,5 g m⁻² en el caso de los materiales MPF/pSil y MPF/pSil⁻, respectivamente, obtenidas por agitación durante 1 día de piezas de silicona porosa de (0,8 x 3,5) cm² en disoluciones de MPF en cloroformo de concentración 5×10^{-5} y $1 \times 10^{-6} \text{ M}$, respectivamente.

Para el caso de C₆₀ en disolución, se han descrito rendimientos cuánticos de cruce intersistemas con un valor unidad, así como unos tiempos de vida del estado excitado triplete muy largos, del orden de los 110 μs en tolueno en ausencia de oxígeno y de 400 μs en fase sólida, como consecuencia de la poca eficiencia de desactivación del

correspondiente estado excitado a través de vías radiantes y no radiantes.^{235,236} Esto influye en que el rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete del C_{60} , descrito en diferentes entornos, tenga un valor próximo a la unidad. Por su parte, para el derivado de fullereno, MPF, al analizar el perfil cinético de la emisión del oxígeno singlete fotogenerado por parte de los materiales MPF/pSil y MPF/pSil⁻ húmedos (Figura 66A y B), se observa un primer tramo de crecimiento en la señal de emisión del $^1\text{O}_2$ seguida por un decaimiento en su luminiscencia.

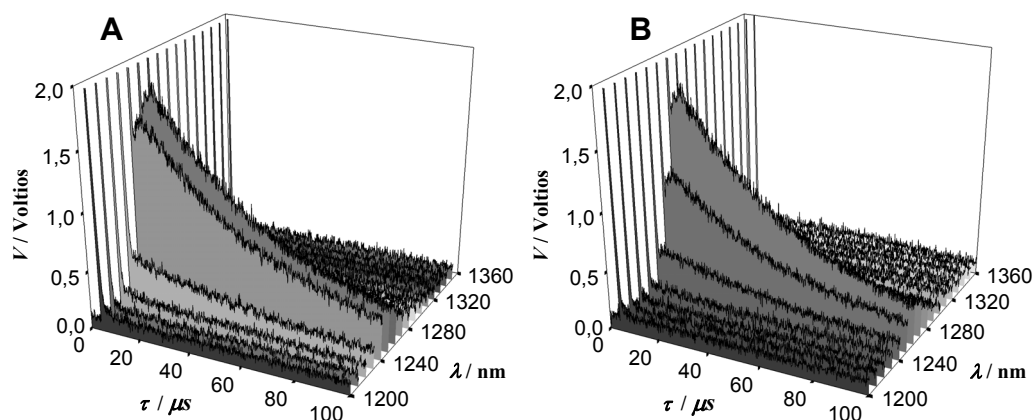


Figura 66. Cinéticas de emisión de $^1\text{O}_2$ en una ventana de tiempo de 100 μs generados por excitación láser a 532 nm de MPF/pSil (A) y MPF/pSil⁻ (B).

Este comportamiento indica la formación de $^1\text{O}_2$ en el tramo ascendente de la curva como consecuencia de la desactivación del estado excitado del MPF por O_2 de una manera limitante, seguida de la señal de desactivación en el medio del oxígeno singlete generado, observable en el tramo descendente de la curva de cinética de emisión del $^1\text{O}_2$. De acuerdo con la ecuación (o):¹⁰⁷

$$I(t) = I(t_0) (\exp(-t/\tau_A) - \exp(-t/\tau_T)) \quad (\text{o})$$

los valores de tiempo de vida que resultan de los análisis cinéticos de ambas señales de emisión corresponden a unos valores de τ_A de 47 μs y 43 μs para MPF/pSil y MPF/pSil⁻, respectivamente, y los tiempos de vida del estado excitado del sensibilizador inmovilizado sobre las membranas dispuestas en medio acuoso, τ_T , corresponden a 2 μs en ambos casos. El hecho de que se observen dos partes bien definidas en la señal de luminiscencia del $^1\text{O}_2$ puede deberse a dos motivos: que la concentración de O_2 sea un factor limitante,¹⁰⁷ o bien que el valor de la constante de desactivación bimolecular del estado excitado del sensibilizador por O_2 no sea elevado.

²³⁵ López-Gejo, J., Martí, A. A., Ruzzi, M., Jockusch, S., Komatsu, K., Tanabe, F., Murata, Y., Turro, N. J. "Can H_2 Inside C_{60} Communicate with the Outside World?", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 14554–14555.

²³⁶ Denisov, V. N., Mavrin, B. N. "Oxygen Effect on Photoluminescence of Fullerite C_{60} Thin Films", *Synth. Met.*, **1993**, 55–57, 3119–3214.

El pSil presenta una elevada permeabilidad al O_2 y, como se ha comentado previamente para los sensibilizadores de Ru(II), dicho material permite alcanzar constantes de desactivación bimolecular elevadas y próximas al control difusional. Por otra parte, este mismo comportamiento en la señal de luminiscencia del $^1\text{O}_2$ se observa para el caso del MPF disuelto en cloroformo, donde el valor de τ_T también corresponde a 2 μs , dado que las solubilidades del O_2 en este disolvente y en silicona son comparables (bajo condiciones normales de presión y temperatura, el coeficiente de solubilidad del O_2 y su solubilidad equivalente en silicona son, aproximadamente $3 \times 10^{-6} \text{ cm}^3 \text{O}_2 \text{ cm}^{-3} \text{Pa}^{-1}$ y 2,8 mmol L^{-1} ,¹²⁶ respectivamente, y en cloroformo estos valores corresponden a $2,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^3 \text{O}_2 \text{ cm}^{-3} \text{CHCl}_3 \text{ Pa}^{-1}$ y 2,4 mmol L^{-1} ,^{237,238} respectivamente). Estas similitudes entre un medio sólido como el polímero de silicona y un medio líquido como el cloroformo descartan, por tanto, posibles limitaciones en la concentración de O_2 . Por otro lado, el tiempo de vida del estado excitado del MPF cuando se encuentra disuelto en cloroformo en ausencia de O_2 , τ_{T0} , corresponde a 2,7 μs , determinado mediante espectroscopía de absorción transitoria del estado excitado del sensibilizador, lo que conduce a un valor de $P\text{O}_2^T$ para MPF disuelto en cloroformo de $\sim 0,25$. Asumiendo valores de los tiempos de vida del estado excitado del MPF en pSil y pSil $^-$ análogos a los determinados en cloroformo, el valor de $P\text{O}_2^T$, presumiblemente, no diferirá mucho de los valores que correspondan a dicho fotosensibilizador inmovilizado sobre ambas siliconas. El valor así determinado para este parámetro es relativamente bajo en comparación con el valor de $P\text{O}_2^T$ próximo a la unidad para el C_{60} en disolución.²³⁹ En este sentido, si para los materiales de trabajo se asume que τ_{T0} se encuentra en el intervalo de 110–400 μs ,^{235,236} y teniendo en cuenta el valor de τ_T de 5 μs , determinado a partir del ajuste cinético de la parte creciente de la señal de emisión del $^1\text{O}_2$ generado por C_{60} dispuesto en el seno de una silicona equivalente a pSil (1–2577, Dow Corning, MI), el valor de $P\text{O}_2^T$ resultante sería superior a 0,95.

Por otra parte, se ha de destacar que, de acuerdo con la bibliografía,⁹² la reducción en los valores de Φ_A en los derivados de fullereno con respecto al C_{60} es más marcada a medida que aumenta el grado de funcionalización respecto de la molécula original, debido a la ruptura de los subsistemas de conjugación de la nube electrónica π característicos del C_{60} , responsables de la eficiente capacidad fotosensibilizadora del fullereno.

Tanto los materiales MPF/pSil y MPF/pSil $^-$ como el material C_{60} /pSil, de manera análoga a los basados en complejos de Ru(II) y silicona porosa, tienen capacidad de

²³⁷ Monroe, B. M. "Photochemical Estimation of Oxygen Solubility", Photochem. Photobiol., **1982**, 35, 863–865.

²³⁸ Montalti, M., Credi, A., Prodi, L., Gandolfi, M. T. "Handbook of Photochemistry", 3rd ed., **2005**, Taylor & Francis, Boca Raton.

²³⁹ Dang, H., Levitus, M., Garcia-Garibay, M. A. "One Step Pd(0)-Catalyzed Synthesis, X-ray Analysis, and Photophysical Properties of Cyclopent[hi]aceanthrylene: Fullerene-Like Properties in a Nonalternant Cyclopentafused Aromatic Hydrocarbon", J. Am. Chem. Soc., **2002**, 124, 136–143.

generación de $^1\text{O}_2$, como demuestra la detección de su señal de luminiscencia centrada a 1270 nm, a partir de la que es posible determinar el parámetro τ_Δ (Figura 67).

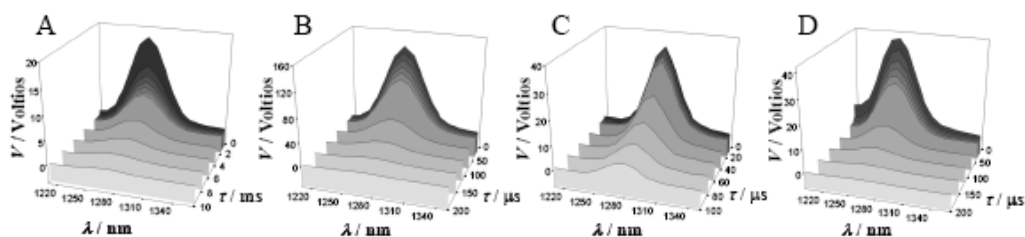


Figura 67. Perfiles de emisión de $^1\text{O}_2$ producido con 4 materiales fotosensibilizadores: $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ (1 g m^{-2}) en una ventana de tiempo de 10 ms (A), MPF/pSil^- (1.5 g m^{-2}) en una ventana de tiempo de 200 μs (B), MPF/pSil (0.5 g m^{-2}) en una ventana de tiempo de 100 μs (C) y RDP/pSil (2 g m^{-2}) en una ventana de tiempo de 200 μs (D).

Tal y como se ha comentado previamente, este parámetro viene determinado por el entorno en el que se genera el oxígeno singlete. Mientras el valor de τ_Δ asociado a $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ se sitúa en el intervalo entre μs –ms, el valor de este parámetro en el caso de MPF/pSil corresponde a 47 μs , siendo 43 μs para MPF/pSil^- . Estos valores en torno a 45 μs asociados a los materiales basados en el derivado de fullereno son ligeramente más elevados que los cerca de 40 μs correspondientes a RDP/pSil y los 30 μs asociados a RDP/pSil^- . En el caso de los materiales RDP/pSil y MPF/pSil , la inmovilización se basa en la interacción hidrófoba entre los sensibilizadores y el pSil neutro. Por su parte, en la inmovilización de RDP^{2+} y MPF (parte de cuyos grupos amino pueden encontrarse protonados) sobre pSil^- , además de los fenómenos de adsorción, existe también una importante contribución electrostática entre el sensibilizador catiónico y el polímero aniónico pSil^- . Por tanto, si bien los microentornos en los que se disponen el RDP^{2+} y el MPF sobre pSil y pSil^- serán, respectivamente, similares entre sí, los dominios en los que se inmoviliza el derivado de fullereno son, probablemente, ligeramente más hidrófobos y, por tanto, más alejados del entorno acuoso que en el caso del RDP^{2+} , dada la mayor hidrofobicidad del MPF en comparación con dicho complejo de Ru(II) , lo que permite explicar que los valores de τ_Δ sean ligeramente mayores en los casos de MPF/pSil y MPF/pSil^- en comparación con los observados para RDP/pSil y RDP/pSil^- .

Por su parte, para los materiales $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ se han medido valores de τ_Δ comprendidos entre 25 μs y $\sim 5 \text{ ms}$. La existencia de componentes discretas de tiempo de vida $\tau_{\Delta i}$ suficientemente diferenciadas,^{103,104} permite asociarlas a poblaciones de moléculas de sensibilizador situadas en diferentes microentornos e, incluso, determinar su proporción relativa teniendo en cuenta los correspondientes factores preexponenciales B_i obtenidos del ajuste de la cinética de decaimiento de la emisión. Al analizar las componentes de tiempo de vida y sus pesos relativos en función de la carga de C_{60} inmovilizado, en todos los casos se detectan valores de τ_Δ menores que 100 μs , similares a los descritos para el resto de los materiales fotosensibilizadores basados en silicona (Tablas 16 y 17),

al mismo tiempo que se encuentran otras componentes de tiempo de vida superior, desde 150 μs hasta varios milisegundos, cuyo valor y peso aumentan al incrementarse la cantidad de fullereno inmovilizado (Tabla 17). En el mismo sentido, la existencia de cristales de tamaño micrométrico observados mediante microscopía confocal, que crecen en tamaño y cantidad a medida que aumenta la cantidad de C_{60} inmovilizado en el pSil, típicamente desde 1–2 μm para una carga de 1 g m^{-2} hasta unos 20 μm ó incluso mayores para 3 g m^{-2} (Figura 68), permitiría formular una hipótesis en función de la agregación creciente del sensibilizador para explicar las componentes discretas de τ_{Δ} obtenidas en el análisis cinético de la emisión del $^1\text{O}_2$ en estos materiales.

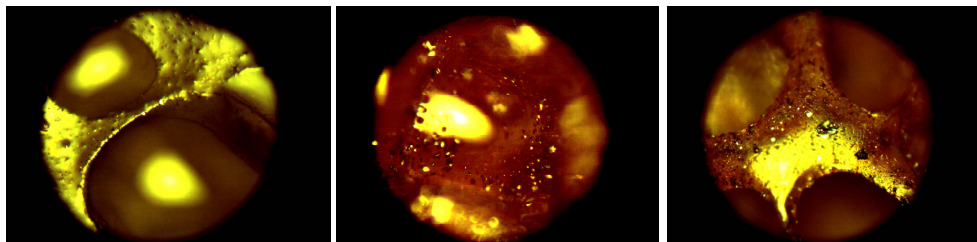


Figura 68. Imágenes de microscopía óptica (350 μm de diámetro, 10X): $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ conteniendo 1 g m^{-2} de sensibilizador (izquierda), $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ conteniendo 1,5 g m^{-2} de sensibilizador (centro) y $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ conteniendo 3 g m^{-2} de sensibilizador (derecha).

A partir de lo anterior y de los datos mostrados en la Tabla 17, podemos atribuir los valores cortos de τ_{Δ} , en el intervalo 25–85 μs , a moléculas de C_{60} incorporadas superficialmente sobre la silicona porosa, con tiempos de vida del oxígeno singlete equivalentes a los detectados para los materiales fotosensibilizadores basados en complejos de Ru(II) (Tabla 16) y MPF (Tabla 17) donde no se observa la formación de agregados. Por otra parte, los elevados valores de $\tau_{\Delta i}$, en el intervalo 1–5 ms, pueden asignarse a cristales micrométricos de C_{60} , con tiempos de vida que se incrementan a medida que aumentan los tamaños de agregación, y los valores intermedios de $\tau_{\Delta i}$ parecen corresponder a cristales de tamaño nanométrico que, dada la resolución del microscopio confocal, no es posible observar. Estos extremos pueden confirmarse al estudiar los valores de τ_{Δ} asociados a C_{60} embebido en diversos polímeros análogos al pSil, como polidimetilsiloxano de diferentes viscosidades o bien siliconas solidificables con contenido variable de tolueno, así como C_{60} sólido (Tabla 18).

Tabla 18. Ajustes multiexponenciales de las señales de emisión del $^1\text{O}_2$ generado por C_{60} (>99%, Aldrich, WI) en diferentes entornos de silicona y en contacto con aire.

<i>Material</i>	$\tau_{\Delta 1} / \mu\text{s}$	% B_1	$\tau_{\Delta 2} / \mu\text{s}$	% B_2	$\tau_{\Delta 3} / \mu\text{s}$	% B_3
$\text{C}_{60}/\text{aire}$ ^a	142	11	1056	27	3752	62
$\text{C}_{60}/\text{PDMS}$ ^b	55	29	359	12	2866	59
C_{60}/sil ^c	32	98	656	0.2	3046	2
$\text{C}_{60}/\text{sil-tol}$ ^d	32	100	—	—	—	—

^a C_{60} en polvo (tamaño de cristales variable hasta $\sim 100 \mu\text{m}$), dispuesto entre dos láminas de vidrio.

^b 2 mg de C_{60} añadidos a 2 g de polidimetilsiloxano (DMS-S15, 45–85 cSt, terminaciones silanol: 0,9–1,2% (OH), ABCR, Alemania).

^c 2 mg de C_{60} añadidos a 2 g de prepolímero de silicona disuelto en tolueno (1–2577, 15–40% de tolueno en peso, Dow Corning, MI).














^d 1 mL de C_{60} disuelto en tolueno ($3 \times 10^{-3} \text{ M}$) añadido a 2 g de prepolímero de silicona disuelto en tolueno (1–2577, 15–40% de tolueno en peso, Dow Corning, MI).

En los materiales de silicona con C_{60} caracterizados en la [Tabla 18](#) se detecta un comportamiento de la cinética de emisión del $^1\text{O}_2$ muy similar al observado con $\text{C}_{60}/\text{pSil}$, con valores en el intervalo entre $30 \mu\text{s}$ y varios ms. Los pesos relativos de las componentes largas, $\tau_{\Delta 2}$ y $\tau_{\Delta 3}$, disminuyen a medida que se reduce el fenómeno de la agregación de C_{60} (ya que se observan agregados de tamaños similares a los descritos anteriormente para $\text{C}_{60}/\text{pSil}$), hasta desaparecer cuando se consigue anular dicho fenómeno de agregación gracias al incremento en el contenido de tolueno de siliconas solidificables dado que, en cantidad suficiente y antes de su evaporación, permite obtener distribuciones homogéneas de fullereno en el seno del material polimérico, de manera similar a una disolución. Para este extremo se obtiene, mediante ajuste monoexponencial de la cinética de emisión, un valor de $\tau_{\Delta} \sim 30 \mu\text{s}$, sin que se detecten valores de tiempo de vida superiores. Además, este valor de τ_{Δ} obtenido mediante ajuste monoexponencial es similar al obtenido cuando se disuelve un fotosensibilizador de referencia (5,10,15,20-tetrafenil-21*H*,23*H*-porfina) en la silicona solidificable. Por otra parte, el valor de τ_{Δ} medido para C_{60} sólido en contacto con aire requiere también un ajuste multiexponencial, obteniéndose valores de τ_{Δ} en el intervalo entre μs –ms, siendo el valor más corto, $\tau_{\Delta 1}$, muy superior a los tiempos de vida del oxígeno singlete correspondientes al $^1\text{O}_2$ generado en los polímeros de silicona.

Todo ello confirma que, debido a las particulares propiedades estructurales y electrónicas del C_{60} , sus agregados cristalinos dan lugar, de manera sorprendente, a valores característicos de τ_{Δ} muy elevados. No obstante, y al igual que en el caso de los materiales sensibilizadores basados en complejos de rutenio, se comprueba que los materiales basados en MPF y fullerenos inmovilizados en siliconas porosas permiten que el $^1\text{O}_2$ fotogenerado posea un elevado tiempo de vida del orden de los μs , lo que, *a priori*, favorecerá su interacción con los microorganismos a inactivar.

Una vez caracterizados fotoquímicamente los diferentes materiales sensibilizadores empleados, se seleccionan aquellos más adecuados para llevar a cabo los estudios de fotodesinfección de agua para consumo doméstico. Para ello, se han de considerar una serie de criterios como son la carga de sensibilizador inmovilizado o los valores de parámetros fotoquímicos y fotofísicos tales como la fracción $P_{\text{O}_2}^T$, directamente relacionada con la eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$, o el tiempo de vida del oxígeno singlete fotogenerado, además de tener en cuenta otros aspectos operativos como la resistencia de los materiales sensibilizadores a su tratamiento en autoclave o bien su fotoestabilidad o su facilidad para el cambio de escala. Estos criterios se evalúan de forma cualitativa en la [Tabla 19](#).

Tabla 19. Resumen de la influencia de diferentes características de los materiales fotosensibilizadores investigados para su aplicación en la fotodesinfección de agua para consumo doméstico (++ muy ventajoso; + ventajoso; – poco ventajoso y/o limitante).

<i>Material</i>		<i>Carga</i>	$P_{\text{O}_2}^T$	τ_Δ	<i>Resistencia autoclave</i>	<i>Foto-estabilidad</i>	<i>Escalado</i>
RSD/CeI⁺		+	–	–	–	+	+
RSD/Ny⁺		+	+	–	–	+	+
RSD/PVDF⁺		++	–	–	–	–	+
RSD/pSil⁺		–	+	+	–	+	++
RBN/pSil-i		++	–	+	++	++	–
RDP/pSil-i		+	++	+	++	+	–
RDB/pSil		+	+	+	++	++	++
RDP/pSil		+	++	+	++	+	++
RDP/pSil-r		+	++	+	++	+	++
RDP/pSil[–]		++	++	+	–	+	++
C₆₀/pSil		++	++	++	++	<i>a</i>	++
MPF/pSil		–	–	+	++	<i>a</i>	++
MPF/pSil[–]		+	–	+	++	<i>a</i>	++

^a Parámetro no estudiado.

Primeramente y en relación con los polímeros de soporte, los materiales basados en Cel^+ , Ny^+ y PVDF^+ se descartan por las bajas fracciones de estados excitados de sensibilizador inmovilizado que son desactivados por O_2 , por su escasa resistencia al tratamiento en autoclave, y por dar lugar a la generación de oxígeno singlete con valores muy pequeños de τ_Δ , todo lo cual determina una limitación para la producción eficiente de $^1\text{O}_2$ y la eficacia en la inactivación bacteriana. Por otro lado, los polímeros de silicona, en especial en forma de película plana, son fácilmente ensamblables en dispositivos de tratamiento de aguas. Además, los polímeros de silicona poseen una alta permeabilidad al oxígeno molecular y no provocan la desactivación de los estados excitados del sensibilizador y del oxígeno singlete fotogenerado. Adicionalmente, su carácter biocompatible favorecerá un buen contacto entre los microorganismos a eliminar y el oxígeno singlete fotogenerado. Por otra parte, el carácter inerte y robusto de pSil permite que dicho material de soporte pueda ser recargado con nuevas cantidades de fotosensibilizador, cuando sea necesario, para paliar los procesos indeseables de fotodegradación. Los materiales sensibilizadores preparados con polímeros iónicos de silicona, pSil^- y pSil^+ , muestran eficiencias de desactivación del estado excitado del sensibilizador por el oxígeno molecular que son entre moderadas y altas, así como largos tiempos de vida del oxígeno singlete y apreciable fotoestabilidad, aunque presentan poca estabilidad ante tratamientos en autoclave en comparación con la silicona porosa neutra, lo que implicaría una menor resistencia a procesos genéricos de lavado del sensibilizador a la fase acuosa. No obstante, dichos materiales iónicos también se seleccionan junto a la silicona de carácter neutro para llevar a cabo los estudios de desinfección de aguas.

En cuanto a los sensibilizadores, se seleccionan finalmente el C_{60} fullereno y el MPF, así como los complejos metálicos catiónicos RDB^{2+} y RDP^{2+} , dadas las sensibles ventajas que presentan sus materiales fotosensibilizadores basados en siliconas porosas. Por último, y a pesar del gran carácter hidrófilo del RSD^{4-} que conduce a su lavado al medio acuoso con extrema facilidad, éste complejo aniónico de Ru(II) que sensibiliza la producción de $^1\text{O}_2$ eficientemente no se descarta para evaluar su eficacia de inactivación bacteriana.

1.3. Suspensiones acuosas de agregados nanométricos de C_{60} (nC_{60}).

Todos los materiales caracterizados descritos anteriormente, corresponden a fotosensibilizadores inmovilizados con objeto de su empleo en procesos de inactivación bacteriana en fase heterogénea. Sin embargo y de manera colateral a la inmovilización de C_{60} en pSil, se ha constatado la generación de suspensiones acuosas de nanoagregados de fullereno (nC_{60}) a partir del lavado de los materiales $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ preparados. El C_{60} presenta una solubilidad en agua prácticamente nula (inferior a $10^{-9} \text{ mg L}^{-1}$) y, aunque la solubilidad puede aumentarse mediante el empleo de surfactantes

o encapsulando partículas de C_{60} ,^{92,240} es posible preparar suspensiones de nC_{60} que permiten aumentar significativamente la cantidad de fullereno en agua hasta unos 100 mg L^{-1} .²⁴¹ Con objeto de determinar la (foto)toxicidad de las suspensiones acuosas de nC_{60} que se generan en el proceso de preparación de $\text{C}_{60}/\text{pSil}$, se ha llevado a cabo un estudio comparativo de caracterización fotoquímica, así como de la eficiencia de la inactivación bacteriana de un sensibilizador en fase homogénea (RDP^{2+} en disolución acuosa), con respecto al sistema microheterogéneo constituido por nanopartículas de C_{60} en forma de suspensión acuosa, análogo al TiO_2 en suspensión, que también puede utilizarse como sistema de desinfección de aguas.²¹¹

Existen diversas vías de generación de suspensiones acuosas de nC_{60} como el intercambio de fullereno desde un disolvente orgánico que contiene C_{60} al agua, con posterior eliminación del disolvente intermedio por evaporación. Las suspensiones acuosas generadas de este modo se abrevian en bibliografía como *THF/nC₆₀* cuando se emplea tetrahidrofurano, *TTA/nC₆₀* cuando se trata de tolueno, THF y acetona, *EtOH/nC₆₀* si se utiliza etanol, etc. Otras alternativas para preparar nC_{60} consisten en disolver C_{60} en tolueno efectuando posteriormente una mezcla con agua que es sometida a sonicación y una última fase de evaporación del disolvente apolar (*son/nC₆₀*), o bien, también es posible obtener nC_{60} por contacto mecánico entre agua y C_{60} durante largos periodos de tiempo, generalmente desde varios días hasta varias semanas (*aq/nC₆₀*).^{240,242} En esta memoria se describe un nuevo método alternativo de preparación de nC_{60} , que es relativamente rápido y que consiste en el lavado con agua del material $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ mediante aplicación moderada de presión y temperatura a través de un tratamiento en autoclave. Dicho proceso conduce, de manera reproducible, a una concentración de nC_{60} en medio acuoso que es proporcional a la cantidad de fullereno contenida en los materiales $\text{C}_{60}/\text{pSil}$, de la que se libera al agua en torno a un 10–15%. A través de la caracterización de las suspensiones generadas mediante estudios de dispersión de luz dinámica empleando el equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern, Reino Unido) se ha determinado que los nanoagregados de nC_{60} poseen morfología esférica y las distribuciones de población son monomodales y con un diámetro medio de ~ 400 nm, dado que los tamaños medios de partícula obtenidos a partir de las representaciones gráficas referidas al % de volumen de las partículas y su transformación a % de número de partículas y a % de intensidad de señal son coincidentes y con una escasa dispersión de tamaño (Figura 69).

²⁴⁰ Lyon, D. Y., Adams, L. K., Falkner, J. C., Álvarez, J. J. “*Antibacterial Activity of Fullerene Water Suspensions: Effect of Preparation Method and Particle Size*”, Environ. Sci. Technol., **2006**, 40, 4360–4366.

²⁴¹ Fortner, J. D., Lyon, D. Y., Sayes, C. M., Boyd, A. M., Falkner, J. C., Hotze, E. M., Alemany, L. B., Tao, Y. J., Guo, W., Ausman, K. D., Colvin, V. L., Hughes, J. B. “*C₆₀ in Water: Nanocrystal Formation and Microbial Response*”, Environ. Sci. Technol., **2005**, 39, 4307–4316.

²⁴² Brant, J. A., Labille, J., Bottero, J. Y., Wiesner, M. R. “*Characterizing the Impact of Preparation Method on Fullerene Cluster Structure and Chemistry*”, Langmuir, **2006**, 22, 3878–3885.

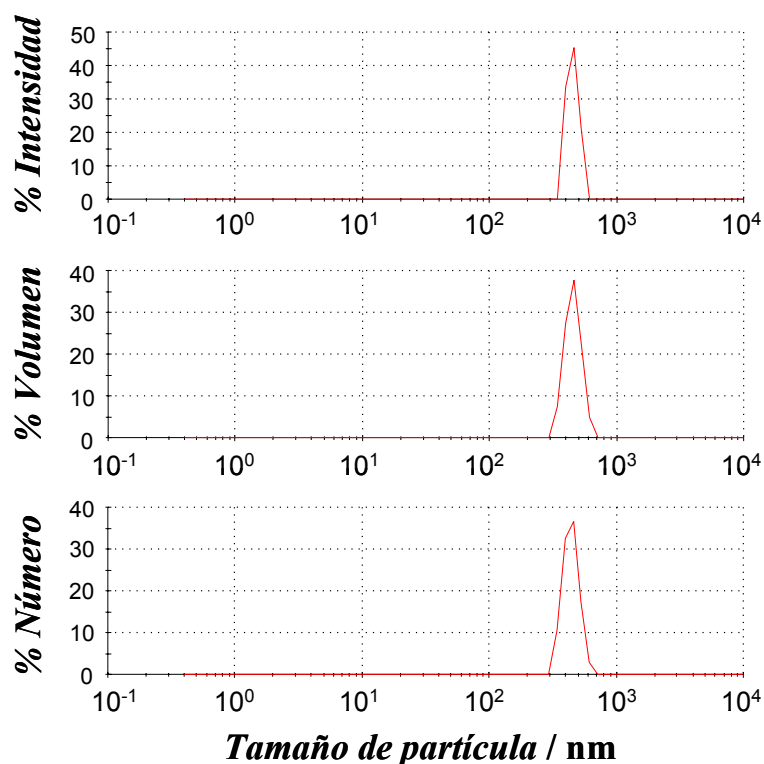


Figura 69. Tamaño medio de los nanoagregados de nC_{60} presentes en las suspensiones acuosas generadas a partir de $\text{C}_{60}/\text{pSil}$, obtenido a partir de las distribuciones referidas al volumen de las partículas y su transformación a número de partículas y a intensidad de señal.

Por otra parte, a través de medidas del potencial Z (ξ , mV) con el equipo Zetasizer Nano ZS, se ha constatado que las nanopartículas poseen una marcada carga superficial negativa, lo que confiere una gran estabilidad a las suspensiones preparadas debido a la repulsión electrostática entre partículas.²⁴³ El valor determinado para las suspensiones de nC_{60} generadas a partir de los materiales $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ es de unos -35 mV debido, probablemente, a la tendencia natural del C_{60} a captar densidad electrónica para aumentar su estabilidad, de manera que el nC_{60} en agua parece encontrarse en forma aniónica o bien en forma hidroxilada a nivel superficial, con la capa más externa de las nanopartículas en forma de fullerol, con parte de los grupos hidroxilo desprotonados.^{85,240,241, 244,}

De cara a poder comparar ambos fotosensibilizadores contenidos en el medio acuoso se han de tener en cuenta los correspondientes rendimientos cuánticos de generación de $^1\text{O}_2$. Mientras el Φ_{Δ} del RDP^{2+} en agua es de 0,42,⁷³ el rendimiento cuántico del nC_{60} es

²⁴³ “Zeta Potential of Colloids in Water and Waste Water”, ASTM Standard D 4187–82, American Society for Testing and Materials, **1985**.

²⁴⁴ Deguchi, S. Alargova, R. G., Tsujii, K. “Stable Dispersions of Fullerenes, C_{60} and C_{70} , in Water. Preparation and Characterization”, *Langmuir*, **2001**, 17, 6013–6017.

de difícil determinación. Para ello se podrían emplear medidas comparativas de emisión de $^1\text{O}_2$ entre nC_{60} y un sensibilizador del que se conoce su rendimiento cuántico de producción de $^1\text{O}_2$, como el caso del RDP^{2+} en disolución acuosa. Sin embargo, la medida de Φ_{Δ} a partir de las dispersiones acuosas obtenidas ha resultado imposible de realizar debido a la muy baja concentración de nC_{60} resultante (5 ppm como máximo, equivalente a 7 μM), determinada mediante análisis del carbono orgánico total presente en comparación con muestras de agua de control (Shimadzu TOC-VCSH, Japón). Alternativamente, se podrían emplear métodos de determinación de Φ_{Δ} basados en la utilización de reactivos atrapadores de oxígeno singlete, pero los resultados no serían concluyentes, dada la capacidad oxidante del propio fullereno.²⁴⁵

Por otra parte, en la bibliografía aparecen diversidad de trabajos con resultados e hipótesis muy diferentes e incluso contradictorios en cuanto a la generación o no de especies reactivas del oxígeno por parte de las suspensiones acuosas de nC_{60} y a los posibles mecanismos involucrados.^{245,246,247} Así, factores que parecen influir en la mayor o menor eficiencia de generación de oxígeno singlete por parte de las suspensiones acuosas de nC_{60} son el tamaño o forma de los cristales,^{240,244} o el método de preparación, debido al disolvente que, en forma de trazas, queda atrapado en el interior de los nanoagregados de fullereno.^{241,248} En este sentido, cuando el disolvente involucrado en la preparación de suspensiones de nC_{60} es agua, mediante el contacto continuado entre agua y C_{60} , la eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$ parece minimizarse en comparación con cuando se lleva a cabo el intercambio de C_{60} desde agua a un disolvente como por ejemplo etanol o, sobre todo, THF.^{240,248} Atendiendo a la mayor o menor capacidad de los disolventes para desactivar el $^1\text{O}_2$ fotogenerado, relacionada con los correspondientes valores de τ_{Δ} en los diferentes disolventes (en torno a 3, 13 y 25 μs para agua, etanol y THF, respectivamente),⁵⁵ parece razonable que podamos asumir la existencia de una relación directa entre la capacidad que presentan dichos disolventes para desactivar el oxígeno singlete fotogenerado en el seno de las nanopartículas y la eficiencia de generación de oxígeno singlete por parte de las suspensiones de nC_{60} . En el caso del nC_{60} aquí preparado a partir del material C_{60}/pSi , y debido a la baja concentración de nC_{60} en las suspensiones obtenidas, la señal de

²⁴⁵ Lyon, D. Y., Brunet, L., Hinkal, G. W., Wiesner, M. R., Alvarez, P. J. J. “Antibacterial Activity of Fullerene Water Suspensions (nC_{60}) Is Not Due to ROS-Mediated Damage”, *Nano Lett.*, **2008**, 8, 1539–1543.

²⁴⁶ Spohn, P., Hirsch, C., Hasler, F., Bruinink, A., Krug, H. F., Wick, P. “ C_{60} Fullerene: A Powerful Antioxidant or a Damaging agent?. The Importance of an In-Depth Material Characterization Prior to Toxicity Assays”, *Environ. Pollut.*, **2009**, 157, 1134–1139.

²⁴⁷ Zhao, B., Bilski, P. J., He, Y. Y., Feng, L., Chignell, C. F. “Photo-Induced Reactive Oxygen Species Generation by Different Water-Soluble Fullerenes (C_{60}) and Their Cytotoxicity in Human Keratinocytes”, *Photochem. Photobiol.*, **2008**, 84, 1215–1223.

²⁴⁸ Markovic, Z., Todorovic-Markovic, B., Kleut, D., Nikolic, N., Vranjes-Djuric, S., Misirkic, M., Vucicevic, L., Janjetovic, K., Isakovic, A., Harhaji, L., Babic-Stojic, B., Dramicanin, M., Trajkovic, V. “The Mechanism of Cell-Damaging Reactive Oxygen Generation by Colloidal Fullerenes”, *Biomaterials*, **2007**, 28, 5437–5448.

emisión característica del $^1\text{O}_2$ a 1270 nm es difícilmente detectable y no ha permitido realizar una estimación fiable del parámetro τ_Δ (Figura 70).

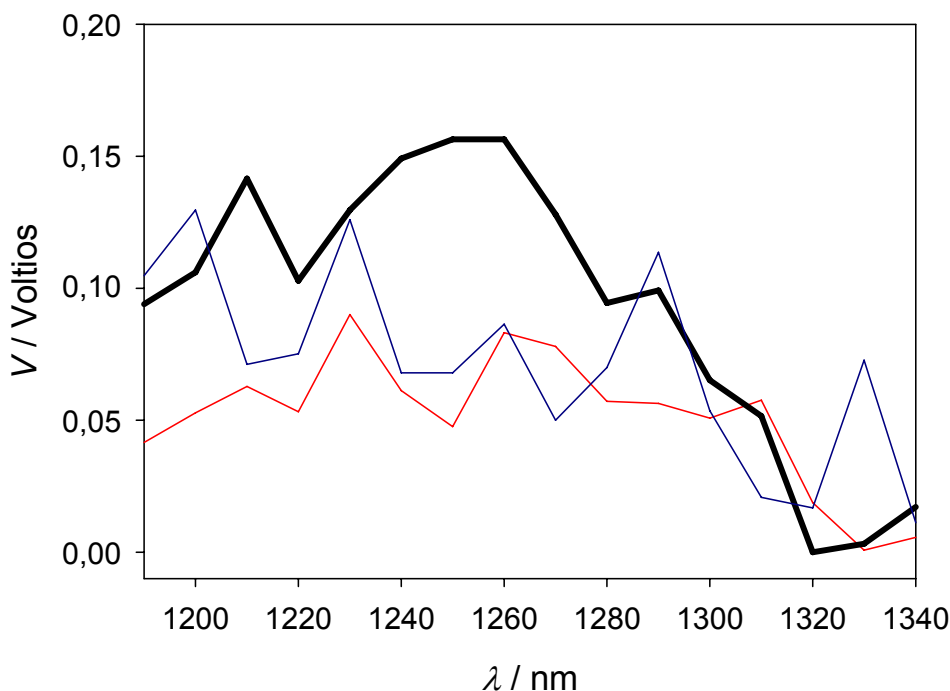


Figura 70. Espectro de emisión del $^1\text{O}_2$ fotogenerado por nC_{60} en una dispersión acuosa conteniendo 5 ppm equilibrada con O_2 (—) en comparación con la ausencia de señal correspondiente a dicha dispersión equilibrada con aire (—) y con N_2 (—).

Debido a las dificultades comentadas para utilizar Φ_Δ como parámetro de comparación entre RDP^{2+} y nC_{60} como fotosensibilizadores de $^1\text{O}_2$ en medio acuoso, se ha considerado la densidad óptica como parámetro comparativo, estudiando la diferente **absorción fotónica** por parte de ambos sensibilizadores en disolución a igualdad de concentración. Bajo estas condiciones y en la región de interés (360–700 nm), la absorción de radiación por el RDP^{2+} es 10 veces superior a la del fullereno. De esta manera, asumiendo que los fotones absorbidos por ambos fotosensibilizadores dan lugar a $^1\text{O}_2$ de acuerdo con sus respectivos rendimientos cuánticos (0,42 para RDP^{2+} disuelto en agua y en torno a 1 para fullereno disuelto en tolueno), es posible comparar la eficiencia de fotosensibilización a nivel práctico, a través de la inactivación bacteriana conseguida con ambos sensibilizadores, como posteriormente se discutirá.

2. SISTEMAS DE FOTODESINFECCIÓN.

Tal y como se describió en el [subapartado 3.1](#) de la parte de [Desarrollo Experimental](#), con objeto de llevar a cabo los estudios preliminares de inactivación bacteriana con los materiales fotosensibilizadores seleccionados, se ha empleado un **microrreactor a escala de laboratorio**. Dicho dispositivo ha servido para evaluar la eficiencia de desinfección empleando los materiales fotosensibilizadores basados en siliconas porosas seleccionados en el apartado anterior, de manera que los resultados obtenidos en el microrreactor sirven como punto de partida para preparar los materiales sensibilizadores más adecuados a gran escala y para el desarrollo y optimización de los dos prototipos de reactores solares que permiten el tratamiento de mayores volúmenes de agua. En los elementos tubulares gemelos de que consta el reactor de laboratorio, se emplean porciones de los diferentes materiales sensibilizadores con sus caras porosas enfrentadas a la luz proveniente de una lámpara de xenon como simulador solar ([Figura 22](#)).

Como se recoge en la [Tabla 7](#), los valores de los **parámetros operacionales** en el dispositivo de laboratorio corresponden a un área de material fotosensibilizador iluminado A_{ilum} de $(0,8 \times 3,5) \text{ cm}^2$ y $(0,4 \times 5) \text{ cm}^2$ para los materiales basados en silicona porosa con configuración plana y cilíndrica, respectivamente, empleados para tratar un volumen V de agua de 10 mL, que circula con un caudal q_v de $0,25 \text{ mL min}^{-1}$. La irradiancia E incidente sobre las muestras dispuestas en el dispositivo de laboratorio, en el intervalo 360–700 nm, es de unos 20 W m^{-2} y la temperatura de trabajo corresponde a una temperatura ambiental de $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Bajo estas condiciones constantes, y tal como se describe posteriormente, se ha evaluado la inactivación bacteriana empleando los diversos materiales fotosensibilizadores descritos.

Partiendo de los resultados preliminares de desinfección y de las condiciones de trabajo empleando el dispositivo de laboratorio, se seleccionan los materiales fotosensibilizadores más apropiados, así como las condiciones operacionales más adecuadas en los dos **prototipos solares** desarrollados, coaxial y de aletas, con objeto de comparar la eficiencia de ambos sistemas desde el punto de vista de la inactivación bacteriana. Como se describió previamente en el [subapartado 3.2](#) de la parte de [Desarrollo Experimental](#), la sección de los colectores de configuración coaxial y de aletas tienen, respectivamente, forma de W y de U, con un área total A en ambas superficies reflectoras de colector CPC de 1 m^2 . Estas características determinan un número diferente de tubos de vidrio conectados en serie, dependiendo del tipo de colector (5 y 7 tubos para el prototipo coaxial y de aletas, respectivamente), y también condiciona que los soportes plásticos internos dispuestos en el eje de cada tubo iluminado difieran en su forma y volumen, ya que dichos soportes han sido optimizados para una máxima absorción de radiación solar por parte del material fotosensibilizador dispuesto sobre ellos, un cilindro concéntrico para el prototipo coaxial y un prisma rectangular para el sistema de aletas. En ambos casos la cara porosa del material

fotosensibilizador está en contacto con el agua a tratar dentro de los tubos (Figura 23). Por otra parte, aunque el área del soporte interno por tubo es similar en ambas configuraciones (unos $0,15 \text{ m}^2$ por tubo, cada uno de los cuales puede ser cubierto por unos 2,7 trozos de membrana de $1500 \times 35 \times 1,5 \text{ mm}$ de material sensibilizador), el volumen de agua por tubo es diferente en los dos sistemas y corresponde a ~ 1 ó $\sim 2 \text{ L}$ para el prototipo concéntrico y de aletas, respectivamente. Por tanto, las cantidades de agua que permiten llenar todos los tubos así como los valores de A_{ilum} , área de material sensibilizador ensamblado en todos los tubos aceptores de radiación, difieren en los prototipos.

Teniendo en cuenta estas ineludibles diferencias de diseño entre los reactores solares, no es factible mantener, entre ambos sistemas, valores constantes de algunos parámetros sin que exista cierta desviación de otros, por lo que se hace necesario alcanzar un compromiso de cara a la comparación de ambos prototipos. Si se fija el valor de A_{ilum} o, lo que es lo mismo, se mantiene la relación A_{ilum}/A en valores similares para ambos prototipos solares, la proporción de volumen de agua iluminada en contacto con material fotosensibilizador respecto al total de agua a tratar, V_{ilum}/V , o bien la proporción A_{ilum}/V podrán ser similares para ambos sistemas, aunque no ambas relaciones al mismo tiempo. En los reactores solares, además de la inactivación bacteriana por fotogeneración de $^1\text{O}_2$, también ocurrirá de forma inevitable la inactivación de microorganismos por efecto de la radiación solar incidente (efecto SODIS) como consecuencia de la componente UV de la misma. Por ello, para un valor de A_{ilum} dado, parece más lógico tratar de mantener constante la relación V_{ilum}/V entre ambos sistemas aun a costa de cierta desviación en A_{ilum}/V .

De acuerdo con los datos mostrados en la Tabla 8, se ha seleccionado un valor de área de fotosensibilizador iluminada en torno a $0,6 \text{ m}^2$ en ambos prototipos ($0,57$ y $0,65 \text{ m}^2$ en el prototipo concéntrico y de aletas, respectivamente). Estos valores implican disponer el material fotosensibilizador en 4 de los 5 tubos del reactor coaxial, frente a 5 de los 7 tubos correspondientes al sistema de aletas. De esta manera, manteniendo un número entero de tubos dispuestos con material fotoactivo, el área de superficie reflectora aprovechada en procesos fotocatalíticos es similar. Además, así se maximiza el número de tubos que contienen material fotosensibilizador pero dejando tubos independientes en ambos sistemas, esto es, sin fotosensibilizador. Esto confiere versatilidad a los prototipos solares desarrollados, dado que la cantidad de material fotosensibilizador puede ser incrementada para, en caso de ser necesario, aumentar la eficiencia de los sistemas de trabajo. Asimismo, los materiales basados en complejos de Ru(II) pueden ser compatibilizados en el mismo sistema con otros materiales fotocatalíticos, como TiO_2 soportado, que doten al reactor solar de otras ventajas adicionales como la descontaminación de materia orgánica. Ya se comentó que el TiO_2 es un fotocatalizador capaz de aprovechar parte de la radiación solar ultravioleta para generar radical hidroxilo, HO^\bullet , un potente oxidante que puede ser empleado en la degradación de materia orgánica y, de forma complementaria, en desinfección. Si bien

dicho catalizador presenta una serie de limitaciones prácticas, el uso combinado con material fotosensibilizador dotaría al sistema de desinfección de la capacidad de reducir la contaminación del agua a tratar, así como de un carácter biocida remanente bajo condiciones de oscuridad debido a la generación de H_2O_2 como ya se describió previamente y se ha comprobado en diferentes estudios.^{49,53}

Hay que destacar que para considerar el área iluminada de material fotocatalítico dispuesto en el reactor de aletas se ha descontado la parte de material que no aprovecha la radiación solar, que corresponde con aquella parte que descansa sobre los diferentes tubos de vidrio que conforman el colector de aletas. Por otra parte, la cantidad de material fotosensibilizador presente afecta, de forma directa y en cada instante, a unos 5 y 10 L de agua iluminada para los prototipos coaxial y de aletas, respectivamente. Este hecho, unido a que se requiere una mayor cantidad de agua para el llenado del sistema de aletas, conduce a que cada tratamiento se llevase a cabo para 10 L de agua en el reactor coaxial y 17,5 L en el caso del prototipo de aletas. Además, como se comentó previamente, estos volúmenes moderados de agua permiten que sea factible estudiar el tratamiento discontinuo de agua en condiciones piloto, con costes razonables de operación y sin necesidad de almacenar unas cantidades exageradas de agua para la realización de los experimentos.

Analizando las relaciones de estos parámetros, obtenemos que V_{ilum}/V toma un valor similar en ambos prototipos (0,52 en el sistema coaxial vs. 0,57 en el sistema de aletas) mientras que la relación A_{ilum}/V se desvía inevitablemente, para corresponder a aproximadamente 0,06 vs. 0,04, respectivamente (Tabla 8). Para que los valores de V_{ilum}/V hubiesen sido coincidentes, se podrían haber seleccionado unos volúmenes de agua a tratar de unos 10 y 20 L de agua en el reactor concéntrico y de aletas, respectivamente. Sin embargo esos valores hubiesen conducido a una desviación aún mayor entre ambos sistemas en cuanto a la relación A_{ilum}/V .

Como ya se ha comentado, la inevitable contribución del efecto SODIS sobre la inactivación bacteriana conduce a que, en principio, sea preferible mantener constante la relación V_{ilum}/V a costa de la desviación comparativa del parámetro A_{ilum}/V , más aun si se tiene en cuenta que, para las condiciones seleccionadas, dicha desviación conduce a que el valor de A_{ilum}/V del reactor concéntrico sea superior al del reactor de aletas. Se ha de tener en cuenta que, aunque entre ambos prototipos se mantiene la proporción V_{ilum}/V , el efecto SODIS será, *a priori*, más importante en el prototipo de aletas debido a una mayor proporción de agua iluminada que no está en contacto directo con el material sensibilizador. En este prototipo, 2 tubos de un total de 7 no contienen material fotosensibilizador, frente a 1 de 5 tubos en el sistema coaxial. Por ello, es justificable que, dado que son inevitables ciertas desviaciones operacionales entre ambos sistemas, sea el reactor coaxial el sistema que se vea ligeramente favorecido por disponer de una mayor cantidad de área iluminada de sensibilizador por litro de agua a tratar.

Por último, si se analizan las **relaciones** A_{ilum}/V y V_{ilum}/V asociadas a los prototipos solares, con respecto al microrreactor de laboratorio ([Tabla 7](#) vs. [Tabla 8](#)), observamos en este último una mayor desviación comparativa en V_{ilum}/V , con un valor de 0,1 frente a 0,5–0,6 en los prototipos, mientras que la desviación comparativa para A_{ilum}/V es menor, con un valor correspondiente a 0,03, cuantitativamente más próximo a los valores asociados a los reactores solares (0,04–0,06). No obstante, la desviación en V_{ilum}/V no es determinante, teniendo en cuenta que en el microrreactor el efecto SODIS se minimiza, dado que el simulador solar empleado está provisto de filtros que eliminan la radiación UV e IR. Además, el hecho de que la cantidad de material fotosensibilizador y de agua en contacto con dicho material por unidad de volumen de agua a tratar, sean superiores en ambos tipos de reactores solar, implica una ventaja operacional respecto al microrreactor, lo cual es deseable.

Respecto al **caudal de circulación de agua**, q_v , se ha elegido 2 L min^{-1} como valor operacional a la salida de los circuitos en ambos reactores solares. Debido al diseño de ambas configuraciones, ello da lugar a un flujo transicional en ambos sistemas, aunque con diferentes valores del número adimensional de Reynolds (Re) en torno a 2000 y 4000 para el prototipo de aletas y coaxial, respectivamente. Las condiciones de circulación del agua en los dispositivos solares son muy diferentes en comparación con el microrreactor, donde las condiciones son laminares, con un $Re \sim 1$. Se ha de tener en cuenta que, bajo las condiciones de trabajo descritas, el tiempo medio necesario para que los diferentes volúmenes de agua a tratar recorran los respectivos circuitos cerrados es de unos 5 y 9 min para el reactor concéntrico y el de aletas, respectivamente, y de unos 40 min en el microrreactor. Un régimen de circulación laminar similar entre el reactor de escala de laboratorio y los reactores solares conduciría a tiempos de experimentación demasiado largos en relación con las limitadas horas diurnas.

Por otra parte, el hecho de que se seleccione un mismo caudal en los dos reactores solares, a pesar de que ello suponga ciertas diferencias en los regímenes de circulación, se debe a que existe una mayor influencia de los diseños ópticos de ambos sistemas sobre la inactivación bacteriana, respecto al factor reológico, como se deduce de la [Figura 51](#). Cuando se estudia el efecto de la reología del agua sobre la inactivación de *E. coli* a una concentración inicial relativamente elevada (10^4 UFC mL^{-1}) y en contacto con material RDP/pSil irradiado en el prototipo concéntrico, se observa que el caudal de 2 L min^{-1} proporciona unos mejores resultados de inactivación bacteriana que seleccionando caudales cuantitativamente más bajos o más altos ($0,25 \text{ L min}^{-1}$, régimen laminar; 15 L min^{-1} , régimen turbulento). Sin embargo, se ha comprobado que el sistema de aletas se muestra más eficiente para la inactivación bacteriana, independientemente de si se trabaja con valores similares del nº de Reynolds en ambos sistemas ($Re \sim 2000$; $q_v \sim 1,1 \text{ L min}^{-1}$ para el reactor coaxial, frente a $q_v \sim 2 \text{ L min}^{-1}$ para el reactor de aletas) o valores diferentes ($q_v \sim 2 \text{ L min}^{-1}$; $Re \sim 2000$ en el reactor de aletas frente a $Re \sim 4000$ en el reactor concéntrico). Por tanto, y puesto que un

caudal de 2 L min^{-1} puede ser suministrado para ambos sistemas mediante una bomba centrífuga de bajo coste y consumo (12 W), compatible con alimentación mediante un pequeño panel solar, se ha seleccionado este caudal como valor operacional. Se ha de señalar que, para modificar los caudales, es posible llevar a cabo la recirculación de parte del agua al depósito sin que pase por el colector, a modo de cortocircuito (Figura 26).

Por su parte, la **temperatura** y la **irradiación solar** son variables muy relacionadas con los procesos de inactivación bacteriana pero, a diferencia de lo que sucede en los estudios de laboratorio, se trata de parámetros ambientales. Como se ha comentado, la exposición directa del agua a la luz solar contribuye a la inactivación bacteriana debido al efecto germicida de la componente UV de la radiación unido, de forma sinérgica, al aumento significativo de la temperatura del agua. Aunque el efecto SODIS es, por tanto, deseable como proceso desinfectante auxiliar de la fotosensibilización, el objetivo del presente trabajo es el estudio de la mejora de la calidad microbiológica del agua a través de $^1\text{O}_2$ como especie reactiva. La radiación UV puede ser limitada a través de la selección del material de los tubos de vidrio del reactor, si bien esto no es deseable, ya que la contribución de la radiación UV sobre los procesos de fotosensibilización por parte de los materiales seleccionados es significativa. En lo referente al parámetro **temperatura**, se ha llevado a cabo la medición continua de la temperatura del agua en el interior de los reactores solares desarrollados. Aquellos experimentos en los que el agua contaminada objeto de evaluación ha alcanzado los 50°C , se han descartado para asegurar el mantenimiento de temperatura dentro del intervalo favorable de desarrollo de las bacterias de estudio ($15\text{--}45^\circ\text{C}$). Así se reducen desviaciones y se aumenta la reproducibilidad en los resultados obtenidos. Es necesario destacar que los colectores CPC, al no tener efecto concentrador, no dan lugar a un importante aumento de la temperatura del agua que circula en su interior, por lo que esta situación ha sucedido rara vez, a pesar de trabajar con los reactores solares en las horas centrales de días soleados a la latitud de Madrid. El incremento en la temperatura del agua a la salida de los colectores respecto de la temperatura a la entrada es, por lo general y para las condiciones de trabajo, poco apreciable ($1\text{--}2^\circ\text{C}$; Figura 55) y, por otra parte, no existen diferencias significativas en la evolución de la temperatura del agua tratada con ambas configuraciones de colector. Por otro lado, la **irradiancia** E incidente sobre los materiales fotosensibilizadores en los reactores solares es un parámetro ambiental y, por tanto, variable. Ello conduce a que la base de cálculo, a diferencia del simulador solar del laboratorio (E constante de 20 W m^{-2} en el intervalo $360\text{--}700 \text{ nm}$), no deba ser el tiempo de exposición solar sino la **dosis de radiación** Q ($360\text{--}700 \text{ nm}$) que se acumula a lo largo del experimento concreto, estimada a partir de los datos de irradiancia instantánea. De esta manera, es posible comparar los resultados obtenidos en diferentes días con ambos prototipos solares entre sí. Puesto que los procesos de inactivación bacteriana objeto de estudio están directamente relacionados con la radiación solar incidente, interesa su optimización en ambos prototipos. En este

sentido, se han seleccionado colectores de tipo CPC pero, dado que son dispositivos de carácter estático, la captación de radiación solar se ha optimizado alineando la estructura de soporte en la dirección Este-Oeste, cara al Sur e inclinada 40° (de acuerdo a la latitud geográfica local). Bajo estas condiciones y como dato orientativo, un valor típico de irradiancia es de unos 400 W m^{-2} en el intervalo 360–700 nm en las horas centrales de días soleados a la latitud de Madrid (Figura 29).

Por último comentar que, cuando se ha requerido el estudio preliminar de la capacidad biocida bajo irradiación solar de pequeñas piezas de material de $(0,8 \times 3,5) \text{ cm}^2$, se han utilizado cubetas plásticas de fluorescencia con agitación magnética. Bajo estas condiciones, se emplean volúmenes reducidos de agua (3–4 mL), con unas relaciones de A_{ilum}/V y V_{ilum}/V correspondientes a $\sim 0,1$ y 1, respectivamente, que son ventajosas respecto al microrreactor y los reactores solares.

Bajo las condiciones operacionales descritas para los distintos dispositivos de trabajo, se han realizado estudios de la eficiencia de inactivación bacteriana empleando los diferentes materiales fotosensibilizadores seleccionados a partir de su caracterización fotoquímica previa, al mismo tiempo que se han llevado a cabo estudios comparativos de desinfección con los materiales fotosensibilizadores finalmente seleccionados en los dos prototipos solares de trabajo, con objeto de determinar la configuración más ventajosa y los parámetros operacionales óptimos.

3. RESULTADOS DE DESINFECCIÓN.

Considerando las excelentes características de fotogeneración de $^1\text{O}_2$ de los distintos materiales fotosensibilizadores basados en silicona porosa seleccionados, se ha estudiado su eficiencia de fotodesinfección en los distintos dispositivos de trabajo, empleando dos tipos de bacterias, *E. coli* y *E. faecalis*, para niveles moderados-elevados de concentración inicial bacteriana, comprendidos entre 10^2 y 10^4 UFC mL^{-1} . Puesto que en el dispositivo a escala de laboratorio la irradiancia puede considerarse constante y, por tanto, la base de cálculo empleada es el tiempo de irradiación, la tasa media de inactivación bacteriana puede servir como criterio de comparación de resultados. Sin embargo, puesto que en los prototipos solares la base de cálculo debe ser la dosis de radiación acumulada, la tasa media de inactivación bacteriana puede utilizarse como criterio de comparación orientativo, siendo la constante cinética de inactivación bacteriana un parámetro más representativo por considerar la dosis de radiación.

A continuación se discuten los diferentes resultados de inactivación bacteriana obtenidos en función de si los fotosensibilizadores se encuentran inmovilizados (en fase heterogénea) o bien presentes en la propia fase acuosa (fase homogénea o fase microheterogénea).

3.1. Inactivación bacteriana por fotosensibilizadores en fase heterogénea.

Seguidamente se procede a la discusión de los resultados de fotoinactivación bacteriana obtenidos con los distintos materiales sensibilizadores seleccionados, en función del tipo de inmovilización de los fotocatalizadores sobre los polímeros de soporte. Se ha de comentar que, en el caso de los materiales de trabajo basados en complejos de Ru(II), se comprobó en todo los casos, la ausencia de sensibilizador libre en las aguas a niveles en que pudiese causar (foto)citotoxicidad. Para ello, se realizaron procesos de lavado minucioso en las etapas de preparación de los materiales fotosensibilizadores que aseguran que las concentraciones de complejo liberado al medio acuoso son inferiores a 10^{-9} M. Los materiales basados en C_{60} no presentan este problema, debido a la gran insolubilidad de estos fotosensibilizadores en el medio acuoso.




3.1.1. Materiales basados en fotosensibilizadores adsorbidos.

De entre los distintos materiales sensibilizadores basados en **complejos de Ru(II)**, se han llevado a cabo experimentos de inactivación bacteriana en el microrreactor empleando RDP/pSil-i, RDP/pSil y RDB/pSil, mientras que en los prototipos solares se ensayaron RDP/pSil y RDB/pSil.

Resultados de desinfección a pequeña escala.

Las tasas medias de inactivación bacteriana obtenidas con los materiales RDP/pSil-i, RDP/pSil y RDB/pSil empleados en el dispositivo de laboratorio se recogen en la [Tabla 20](#).

Tabla 20. Tasas medias de inactivación ($\text{UFC h}^{-1} \text{L}^{-1}$) para *E. faecalis* y *E. coli* entre los niveles de concentración inicial bacteriana (N_0) de 10^3 – 10^4 UFC mL^{-1} , empleando RDP/pSil-i, RDP/pSil y RDB/pSil como materiales fotosensibilizadores irradiados en el microrreactor ($E = 20 \text{ W m}^{-2}$).

Material		<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>		
		$N_0 / \text{UFC mL}^{-1}$			$N_0 / \text{UFC mL}^{-1}$		
		10^3	2×10^3	10^4	10^3	2×10^3	10^4
RDP/pSil-i		$1,1 \times 10^5$	<i>a</i>	<i>a</i>	$0,7 \times 10^5$	<i>a</i>	<i>a</i>
RDB/pSil		$1,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	<i>a</i>	$2,0 \times 10^5$	<i>a</i>
RDP/pSil		$1,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	<i>a</i>	$1,9 \times 10^5$	<i>a</i>

^a Dato no evaluado.

Los resultados de supervivencia bacteriana obtenidos empleando RDP/pSil-i y RDP/pSil son similares entre sí, con una tasa de inactivación del orden de $10^5 \text{ UFC h}^{-1} \text{L}^{-1}$ para ambos tipos de bacteria a una concentración bacteriana inicial de 10^3 UFC mL^{-1} , si bien el material basado en pSil muestra una ligera ventaja ([Figura 37](#), izquierda vs.

Figura 63B). Esto es debido a que la configuración plana confiere al pSil una mayor área iluminada en comparación con la configuración cilíndrica del pSil-i (Tabla 7). Por tanto, el pSil es el soporte polimérico finalmente seleccionado para preparar los materiales fotosensibilizadores a gran escala, dado que la geometría cilíndrica desaprovecha buena parte de su superficie cuando el material fotosensibilizador es iluminado y, sobre todo, los materiales preparados a partir de silicona porosa plana facilitan el escalado, así como su ensamblaje en reactores solares.

Empleando el *microrreactor* bajo las condiciones de trabajo estudiadas, el material basado en pSil y RDP^{2+} permite alcanzar condiciones de desinfección en unas 8–10 h para ambos tipos de bacteria en el intervalo de concentraciones iniciales evaluadas (Figs. 37, 50, 63). Por otra parte, el material RDB/pSil se comporta de una manera análoga al material RDP/pSil, como demuestran los resultados de las Figuras 50 y 63B. En todos los casos, se puede observar que la inactivación bacteriana debida a los materiales fotosensibilizadores irradiados es significativamente superior a la inactivación bacteriana asociada a los experimentos de control.

En la Figura 37 se puede apreciar de una manera detallada la diferente evolución de la inactivación bacteriana al emplear material fotosensibilizador, polímero sin sensibilizador o únicamente agua, tanto bajo iluminación como bajo condiciones de oscuridad. Si se compara el material sensibilizador y el polímero sin teñir, se observa que en *oscuridad* ambos se comportan de una manera equivalente, lo que implica que el material fotosensibilizador es un material inocuo *per se*. Por el contrario, la *irradiación* de los materiales fotosensibilizadores provoca una gran inactivación bacteriana respecto al empleo del polímero sin sensibilizador, lo que ha de asociarse al efecto biocida del $^1\text{O}_2$ fotogenerado.

Por otra parte, las leves diferencias en la evolución de la población bacteriana empleando el material sensibilizador o el polímero sin teñir, con respecto a lo observado sólo en agua, siempre en condiciones de oscuridad, indica cierto grado de colonización de los materiales porosos por parte de los microorganismos contenidos en el agua. Este hecho, propiciado por el carácter biocompatible del polímero de silicona porosa y por la laminaridad en el régimen de circulación del agua en el dispositivo de laboratorio, no parece ser un factor significativo, aunque permite explicar las pequeñas diferencias observadas en la evolución de la concentración bacteriana cuando se compara el polímero sin fotosensibilizador en condiciones de oscuridad y bajo irradiación. Mientras que en la Figura 37 no se aprecian diferencias en los resultados obtenidos al emplear únicamente agua con bacterias suspendidas bajo irradiación u oscuridad, tal y como se pretendía a través del empleo de filtros de radiación UV e IR, la moderada disminución con el tiempo en la cantidad de bacterias cuando el polímero de silicona sin teñir es irradiado en relación a cuando se mantiene en la oscuridad, indica una cierta fotólisis bacteriana como consecuencia de la reflexión de la radiación sobre las bacterias que colonizan el polímero de silicona porosa.

Por último, se ha de comentar que cuando se estudian, como experimentos de control, las cinéticas de supervivencia bacteriana en agua en la oscuridad, esto es, en ausencia de material sensibilizador o de polímero sin teñir, se observa un mantenimiento de la concentración bacteriana a tiempos cortos, seguido de un descenso moderado y paulatino asociado a tiempos suficientemente largos (p. ej. [Figura 37](#)), lo que puede explicarse de acuerdo con las propias fases de crecimiento bacteriano. Teniendo en cuenta que los experimentos se realizaron a partir de cultivos en fase estacionaria, en las primeras horas en que las bacterias no son sometidas a efectos nocivos, se mantendrá o incluso se incrementará la carga bacteriana para, a continuación, disminuir su concentración como consecuencia de la disponibilidad limitada de nutrientes.

El hecho de obtener resultados similares de inactivación bacteriana empleando RDP/pSil y RDB/pSil parece entrar en contradicción directa con las notables diferencias en los parámetros fotoquímicos y de producción de $^1\text{O}_2$ asociados a ambos materiales ([Tabla 16](#)). El material RDP/pSil presenta una mayor eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$, por lo que, *a priori*, sería esperable que produjera una inactivación bacteriana más eficaz. Sin embargo, el tiempo de vida del oxígeno singlete fotogenerado es análogo en ambos materiales (τ_{Δ} de 35–40 μs), por lo que la eficiencia en la inactivación bacteriana será similar entre ambos, siempre que se produzca $^1\text{O}_2$ en cantidad suficiente y la interacción polímero-bacteria no sea un factor limitante dentro del radio de acción marcado por el recorrido libre medio del $^1\text{O}_2$ en agua (0,1 μm). Esta hipótesis es respaldada por la existencia de una proporcionalidad directa entre las tasas medias de inactivación y la concentración inicial bacteriana ([Tabla 20](#)). Dado que el oxígeno singlete sólo afectará a las bacterias situadas en un entorno próximo a los puntos de fotogeneración de la especie reactiva, el aprovechamiento de las moléculas de $^1\text{O}_2$ producidas por el material RDB/pSil es mucho más eficiente en comparación con el RDP/pSil.

Por otro lado, hay que destacar que la bacteria de tipo *E. faecalis* se muestra más susceptible a la inactivación por acción fotodinámica, en comparación con *E. coli*, si bien ambos tipos de bacterias son inactivados eficazmente mediante fotosensibilización. Esto puede explicarse considerando que las bacterias gram-negativas, como *E. coli*, poseen una envoltura celular adicional de lipopolisacáridos, en comparación con las bacterias gram-positivas como *E. faecalis* ([Figura 5](#)), lo que origina que los procesos que afectan a la integridad de la membrana celular, como es la acción fotodinámica, requieran una mayor intensidad en el caso de las bacterias gram-negativas.

En cuanto a los materiales basados en fotosensibilizadores de la familia del C_{60} inmovilizados por adsorción, se ha estudiado el material **MPF/pSil**. Este material se ha ensayado en el dispositivo de laboratorio pero, tras unas 9 h de irradiación, no se han observado diferencias significativas con respecto al polímero pSil iluminado como control, a pesar de la detección de la señal característica del $^1\text{O}_2$ a 1270 nm con un $\tau_{\Delta} = 47 \mu\text{s}$ ([Figura 67C](#)). En experimentos realizados bajo radiación solar, de mayor

intensidad que la radiación suministrada por el simulador solar, es posible confirmar que la cantidad de oxígeno singlete fotogenerado es insuficiente para obtener resultados satisfactorios de inactivación en el microrreactor. Como se comentó previamente, debido a la escasa solubilidad de este sensibilizador, la carga de MPF inmovilizada por adsorción en el pSil es de sólo $0,5 \text{ g m}^{-2}$, sensiblemente inferior a los $1,5$ y 2 g m^{-2} correspondientes a RDB^{2+} y RDP^{2+} inmovilizados sobre el mismo material, respectivamente. Además, dada la baja eficiencia de desactivación por O_2 del estado excitado del MPF inmovilizado sobre pSil, en relación con los materiales basados en los complejos de Ru(II) ($P_{\text{O}_2}^T \sim 0,25$ frente a $P_{\text{O}_2}^T \sim 0,65$ y $\sim 0,85$ para MPF/pSil, RDB/pSil y RDP/pSil, respectivamente), existe una clara limitación de la eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$ por parte de MPF/pSil. Por ello, sólo cuando se disponen muestras de MPF/pSil bajo luz solar y en contacto con un volumen muy reducido de agua contaminada, es posible observar diferencias apreciables en la inactivación bacteriana con respecto a pSil irradiado a modo de control (Figura 71).

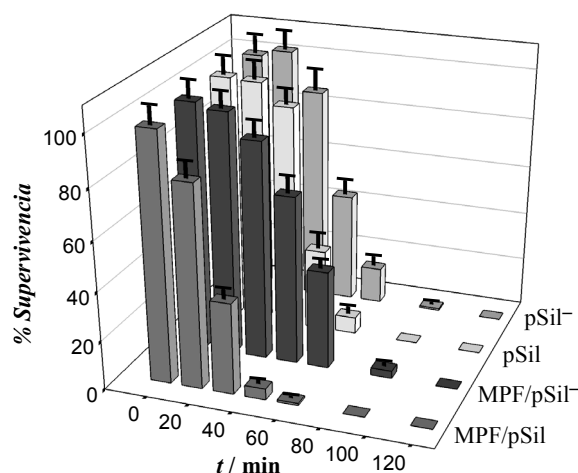






Figura 71. Evolución de una suspensión $2 \times 10^3 \text{ UFC mL}^{-1}$ de *E. faecalis* en agua irradiada con luz solar en presencia de MPF/pSil y MPF/pSil⁻ en comparación con los polímeros de sílica porosa sin teñir como control (pSil y pSil⁻).

Tras unos 60 min de exposición solar ($E \sim 300 \text{ W m}^{-2}$, 360–700 nm), el material basado en MPF y pSil neutro conduce a un descenso de unos 2 órdenes de magnitud en la carga bacteriana inicial ($2 \times 10^3 \text{ UFC mL}^{-1}$ de *E. faecalis*), frente a una disminución de 1 orden de magnitud en el caso de pSil. La acción biocida obtenida con pSil expuesto a luz solar corresponde exclusivamente al efecto SODIS, potenciado por los fenómenos de reflexión de radiación en el polímero blanco sobre las bacterias próximas al mismo. Por tanto, la inactivación bacteriana asociada a MPF/pSil irradiado con luz solar debe de ser consecuencia, en buena medida, del oxígeno singlete fotogenerado, dado que la contribución de la reflexión de luz al efecto SODIS será menos importante, debido al color pardo del material sensibilizador. De esta manera, se pueden confirmar las

propiedades fotodinámicas del MPF/pSil, si bien no se trata de un material fotosensibilizador satisfactorio para su empleo en la mejora de la calidad microbiológica de aguas por la deficiente transferencia de energía desde el estado excitado del sensibilizador al oxígeno molecular.

Partiendo de los resultados preliminares discutidos anteriormente para los materiales preseleccionados basados en fotosensibilizadores adsorbidos sobre sílica porosa neutra, en la [Tabla 21](#) se recogen, de forma cualitativa, las propiedades más relevantes de los mismos respecto a los procesos de desinfección de aguas, como son la cantidad de sensibilizador inmovilizado, parámetros fotoquímicos como $P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$ y τ_{Δ} , la resistencia al tratamiento en autoclave, la fotoestabilidad o la facilidad para el cambio de escala.

Tabla 21. Resumen de la influencia de diferentes características de los materiales fotosensibilizadores para su uso práctico en la fotodesinfección de agua doméstica (++ muy ventajoso; + ventajoso; – poco ventajoso y/o limitante).

<i>Material</i>		<i>Carga</i>	$P_{\text{O}_2}^{\text{T}}$	τ_{Δ}	<i>Resistencia autoclave</i>	<i>Foto-estabilidad</i>	<i>Escalado</i>	<i>Inact. bacteriana</i>
RDP/pSil-i		+	++	+	++	+	–	+
RDB/pSil		+	+	+	++	++	++	+
RDP/pSil		+	++	+	++	+	++	+
MPF/pSil		–	–	+	++	^a	++	–

^a Parámetro no estudiado, dada la poca eficiencia para la inactivación bacteriana de este material fotosensibilizador.

Cambio de escala: reactores solares.

Teniendo en cuenta lo anterior, los materiales seleccionados para llevar a cabo el escalado han sido aquellos basados en complejos de Ru(II) inmovilizados sobre pSil (RDP/pSil y RDB/pSil).

Los diferentes experimentos de desinfección empleando los **reactores solares** se han desarrollado, típicamente, a lo largo de 5 h, correspondientes con las horas centrales de días soleados en Madrid. Ya se comentó que, para tener un criterio de comparación entre diversos días y experimentos, se ha considerado la radiación solar acumulada (Q ó H_0) en el intervalo 360–700 nm, en vez del tiempo de exposición. Asimismo y dadas las diferencias de diseño de los dos reactores de trabajo ([Tabla 8](#)), dicha base de cálculo se refiere al volumen de agua a tratar, con objeto de comparar también ambos prototipos entre sí, de modo que la cantidad de radiación acumulada por unidad de área (H_0) es equivalente para ambos sistemas, pero no así Q al referir la radiación a unidad de área y de volumen. Por este motivo, para tiempos similares de iluminación solar, la dosis de

radiación acumulada Q es comparativamente menor en el caso del reactor de aletas que para el prototipo concéntrico, como puede apreciarse en las escalas del eje de abscisas de las diferentes figuras comparativas (Figuras 44, 52 y 53).

Bajo las condiciones de trabajo descritas (Tabla 8), ambos tipos de bacteria estudiados a concentraciones iniciales de 10^2 – 10^4 UFC mL^{-1} son satisfactoriamente inactivados empleando los dos prototipos solares con diferente configuración (coaxial y de aletas). De esta manera, es factible alcanzar la desinfección para valores de Q a partir de 0,6–0,8 $\text{MJ m}^{-2} \text{L}^{-1}$ (360–700 nm), lo que equivale a tiempos de irradiación de unas 5–6 h en días soleados a la latitud de Madrid. No obstante, ambos prototipos muestran diferencias en la inactivación bacteriana, siendo el reactor de aletas el prototipo con el que, en general, se obtienen unos mejores resultados. Para estudiar los resultados en ambos sistemas de tratamiento de agua, se han analizado tres tipos de experimentos bajo irradiación solar: i) en presencia de material fotosensibilizador, ii) en presencia del polímero pSil pero ausencia del sensibilizador, y iii) en ausencia tanto de fotosensibilizador como de polímero pSil, esto es, en presencia simplemente del soporte plástico interno (polipropileno gris) en el eje de los tubos aceptores de radiación. En todos los casos se ha observado una inactivación bacteriana más eficaz empleando material fotosensibilizador en lugar de únicamente pSil y, a su vez, se produce una mayor inactivación empleando pSil que en presencia tan sólo del soporte plástico interno (Figuras 42 y 43). Por otra parte y de acuerdo con las diferencias morfológicas comentadas previamente, la bacteria *E. faecalis* se muestra más susceptible a la inactivación que la *E. coli*. La desinfección se puede cuantificar a partir de las **constantes cinéticas de inactivación bacteriana** recogidas en la Tabla 22, obtenidas a partir de las correspondientes curvas de supervivencia tras la fase de latencia (Figuras 42 y 43), asumiendo que los datos experimentales se ajustan al modelo cinético simplificado de Chick-Watson referido a la dosis de radiación solar acumulada (ecuación m).

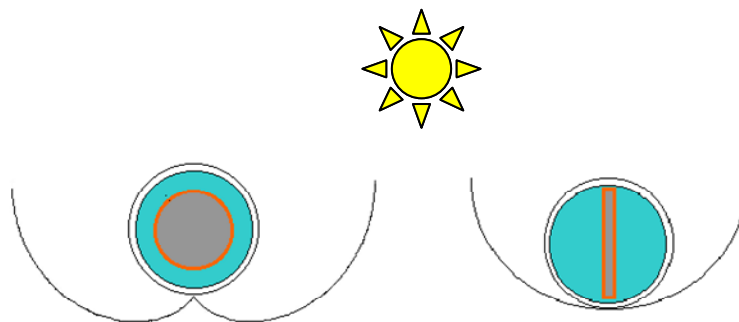
Tabla 22. Constantes cinéticas de inactivación de *E. coli* y *E. faecalis* (10^2 y 10^4 UFC mL^{-1}) en ausencia de pSil y de RDP $^{2+}$, en presencia de pSil sin teñir con RDP $^{2+}$ y empleando RDP/pSil en los prototipos coaxial y de aletas.

Sin pSil ni RDP $^{2+}$					
Microorganismo	$N_0/\text{UFC mL}^{-1}$	Coaxial ^a		Aletas	
		$k/\text{MJ}^{-1}\text{m}^2\text{L}$	r^2	$k/\text{MJ}^{-1}\text{m}^2\text{L}$	r^2
<i>E. coli</i>	10^2	— ^a	—	— ^a	—
<i>E. faecalis</i>	10^2	— ^a	—	$8,9 \pm 0,6$	0,99
<i>E. coli</i>	10^4	$1,8 \pm 0,1$	0,99	$4,0 \pm 0,6$	0,97
<i>E. faecalis</i>	10^4	— ^a	—	15 ± 1	0,99

pSil sin RDP $^{2+}$					
Microorganismo	$N_0/\text{UFC mL}^{-1}$	Coaxial		Aletas	
		$k/\text{MJ}^{-1}\text{m}^2\text{L}$	r^2	$k/\text{MJ}^{-1}\text{m}^2\text{L}$	r^2
<i>E. coli</i>	10^2	$2,1 \pm 0,4$	0,94	$6,0 \pm 0,9$	0,95
<i>E. faecalis</i>	10^2	$1,8 \pm 0,5$	0,80	$9,4 \pm 0,4$	0,99
<i>E. coli</i>	10^4	$2,2 \pm 0,3$	0,95	11 ± 3	0,88
<i>E. faecalis</i>	10^4	$3,3 \pm 0,4$	0,99	15 ± 1	0,99

RDP/pSil					
Microorganismo	$N_0/\text{UFC mL}^{-1}$	Coaxial		Aletas	
		$k/\text{MJ}^{-1}\text{m}^2\text{L}$	r^2	$k/\text{MJ}^{-1}\text{m}^2\text{L}$	r^2
<i>E. coli</i>	10^2	$1,8 \pm 0,4$	0,87	33 ± 6	0,97
<i>E. faecalis</i>	10^2	$4,3 \pm 0,8$	0,95	34 ± 2	0,99
<i>E. coli</i>	10^4	$3,7 \pm 0,7$	0,95	20 ± 3	0,97
<i>E. faecalis</i>	10^4	$4,7 \pm 0,9$	0,95	$21,5 \pm 0,8$	0,99

^a Las curvas de supervivencia bacteriana no permiten su ajuste a una cinética exponencial de primer orden, dado el escaso efecto observado (Figs. 42 y 43).

**Esquema 4.** Configuración coaxial (izquierda) y de aletas (derecha) en los colectores de los reactores solares.

Las diferencias entre los experimentos en los que se comparan los materiales sensibilizadores con los ensayos de control (pSil y soporte interno), pueden explicarse teniendo en cuenta la importancia relativa de los distintos fenómenos biocidas que pueden tener lugar, esto es, la acción fotodinámica del $^1\text{O}_2$ y la fotólisis debida,

principalmente, a la radiación UV incidente (“efecto SODIS”), potenciada o no por fenómenos de reflexión de luz. En el caso de emplear materiales fotosensibilizadores (Esquema 4), dichos fenómenos ocurren de forma simultánea, mientras que en ausencia de los mismos, la inactivación bacteriana se debe únicamente al efecto de la propia radiación solar. Para *un prototipo solar concreto*, el efecto SODIS debido al efecto bactericida de la radiación solar directa que atraviesa el agua contenida en los tubos es similar en todos los casos objeto de estudio. Sin embargo, las cinéticas de inactivación bacteriana observadas cuando únicamente se disponen en los fotorreactores los soportes plásticos internos de color gris son, en general, más lentas que las asociadas al pSil irradiado, puesto que los fenómenos de reflexión de luz en el polímero poroso sin fotosensibilizador serán más relevantes por tratarse de un polímero blanco. Por su parte, el efecto bactericida de la luz difusa reflejada, también se ve favorecido en el caso del pSil blanco en comparación con los materiales fotosensibilizadores naranja-rojizos, si bien los materiales fotocatalíticos dan lugar a la generación de oxígeno singlete como especie bactericida, lo que explica que sus cinéticas de inactivación bacteriana sean, comparativamente, las más rápidas.

Los fenómenos de reflexión de luz asociados a los soportes plásticos internos pueden considerarse poco importantes, debido al color gris de los mismos, por lo que la inactivación bacteriana resultante del empleo de estos soportes puede atribuirse al efecto directo de la radiación solar (efecto SODIS). En el caso de las cinéticas asociadas a pSil, se deben considerar los efectos de la inactivación solar directa más los fenómenos de reflexión de luz. En cuanto a los procesos con los materiales fotosensibilizadores, intervienen la fotólisis directa por la radiación solar junto a la componente de reflexión de luz en el material, además de la contribución del $^1\text{O}_2$, no siendo posible discriminar la contribución debida únicamente al $^1\text{O}_2$ fotogenerado a través de la diferencia entre las cinéticas correspondientes al material fotosensibilizador y al pSil, dado que los fenómenos de reflexión de luz no son comparables entre ambos materiales por sus marcadas diferencias de color (diferente absorción de radiación).

Por otra parte, las diferencias existentes en los resultados de inactivación bacteriana obtenidos con *los reactores solares*, bajo condiciones operacionales comparables entre sí (Tabla 8), se deben a los fenómenos bactericidas ya comentados (generación de oxígeno singlete y efecto SODIS con o sin reflexión de luz) y a sus distintas contribuciones relativas, lo que, a su vez, es consecuencia de las *diferencias de diseño* entre ambos prototipos. Las constantes cinéticas de inactivación bacteriana son, en todos los casos, claramente superiores empleando el prototipo de aletas frente al reactor coaxial (Tabla 22), por lo que los niveles de supervivencia bacteriana alcanzados empleando el reactor de aletas son más bajos para un tiempo similar de iluminación solar con irradiancia comparable, es decir, para un valor equivalente de dosis de radiación acumulada expresada como H_0 (J m^{-2}), aunque de diferente valor si la dosis se expresa como Q ($\text{J m}^{-2} \text{L}^{-1}$) (Figuras 42 vs. 43, Figuras 44, 51B, 52 y 53).

A través del estudio de las correspondientes constantes cinéticas, es posible realizar el análisis de *los procesos de inactivación bacteriana en ambos prototipos*. De manera habitual, los perfiles de inactivación bacteriana obtenidos muestran un comportamiento sigmoide (o “bifásico”), con una primera fase de latencia previa a un rápido descenso en la concentración bacteriana. En general, las curvas de inactivación bacteriana pueden describirse de forma satisfactoria a través de modelos simplificados como el de Chick-Watson, que asume una cinética clásica de primer orden en función de, en nuestro caso, la radiación acumulada. Como se muestra en la [Tabla 22](#), los valores de k varían, en general, en función del prototipo de reactor empleado y del tipo de bacteria estudiada, con $k_{\text{faecalis}} \geq k_{\text{coli}}$ debido a la mayor susceptibilidad de la bacteria gram-positiva a la inactivación, y $k_{\text{aletas}} > k_{\text{coaxial}}$ debido a una mayor eficacia por parte del fotorreactor de aletas.

Las correspondientes constantes cinéticas de inactivación k incluirán contribuciones de los diferentes efectos biocidas concurrentes, si bien ya se ha comentado la dificultad para discriminar la aportación de cada efecto (fotólisis por la radiación solar y fotosensibilización). Teniendo en cuenta la similitud en los parámetros operacionales entre ambos prototipos solares ([Tabla 8](#)), *la mayor eficiencia bactericida del reactor de aletas*, reflejada por unos valores más elevados de k , parece deberse a una mayor contribución del efecto SODIS en el mismo y, posiblemente, a diferencias en la cinética de intercambio bacteriano entre el medio acuoso y el material sensibilizador debido a las distintas condiciones de circulación de agua (régimen de transición), lo que también puede influir en la efectividad de la acción fotodinámica.

Inactivación bacteriana empleando los soportes plásticos internos.

En el reactor coaxial el efecto SODIS es poco importante en términos relativos, debido al menor paso óptico de la radiación, como se deduce de las cinéticas de inactivación bacteriana en experimentos de control con el soporte plástico interno de color gris ([Figura 42](#)) que, por su gran lentitud o, incluso, ausencia de inactivación con la radiación, no se ajustan al modelo cinético exponencial de Chick-Watson ([Tabla 22](#)). Sin embargo, en el reactor de aletas, donde el paso óptico es elevado y la velocidad de circulación del agua es menor en comparación con el reactor coaxial, la inactivación por la radiación solar directa es muy efectiva, como se aprecia en las correspondientes cinéticas ([Figura 43](#)), que son significativamente más rápidas y que permiten su ajuste al modelo cinético empleado ([Tabla 22](#)).

Inactivación bacteriana empleando el polímero pSil.

Las curvas de supervivencia asociadas al polímero pSil (blanco) incluyen la aportación del efecto biocida directo de la radiación solar, estimado a través de las cinéticas correspondientes al soporte gris, así como los fenómenos de reflexión de la radiación incidente sobre el polímero poroso. En las [Figuras 42 y 43](#) se puede observar que, en general, no existen grandes diferencias en los dos prototipos para los niveles de inactivación bacteriana alcanzados con pSil o el soporte gris interno, especialmente en

el reactor de aletas para el que los hábitos de las curvas llegan a ser casi coincidentes en el caso de la bacteria menos resistente, *E. faecalis*. Por ello, al comparar los perfiles de supervivencia bacteriana asociados al polímero blanco pSil en la [Figura 53](#), se aprecian tendencias similares entre ambos prototipos, tanto para los dos tipos de microorganismos estudiados como para sus diferentes concentraciones iniciales, si bien se observan unas cinéticas más lentas en el reactor coaxial que en el prototipo de aletas ([Tabla 22](#)). No obstante, el menor paso óptico en el reactor coaxial conduce a que el efecto biocida debido a la reflexión de radiación incidente sea, en términos comparativos, más marcado en dicho prototipo.

Inactivación bacteriana empleando los materiales sensibilizadores.

En el caso de las correspondientes cinéticas observadas con los materiales fotosensibilizadores, los fenómenos biocidas de reflexión de luz se minimizan en comparación al empleo de los polímeros de silicona sin teñir, por tratarse de materiales fuertemente coloreados. Por tanto, si bien en ambos prototipos solares concurren los diferentes efectos bactericidas descritos, en el reactor concéntrico domina la fotosensibilización, mientras que en el prototipo de aletas domina el efecto SODIS lo que, unido al efecto biocida del $^1\text{O}_2$ fotogenerado, convierte al reactor de aletas en un sistema de fotodesinfección más eficaz. De hecho y como ya se discutió con anterioridad, los resultados de inactivación bacteriana obtenidos con el prototipo de aletas son superiores a los correspondientes al prototipo coaxial, independientemente de si las condiciones de circulación del agua en ambos sistemas son similares ([Figura 51B](#)) o diferentes ([Figura 44](#)).

La cinética de intercambio bacteriano entre la fase acuosa y los materiales sensibilizadores es un factor importante en la desinfección por $^1\text{O}_2$, ya que es necesario un contacto íntimo entre los microorganismos y la superficie porosa de silicona, dada la corta vida del oxígeno singlete en agua. En este sentido, se puede afirmar que el intercambio de bacterias es muy eficaz en ambos prototipos, a pesar de las diferencias en el régimen de circulación del agua, de manera que en ambos casos los procesos de adsorción/desorción serán muy rápidos gracias a las óptimas características hidrodinámicas del pSil.¹⁹⁷ Si la adsorción de bacterias fuese muy rápida en comparación con su desorción, al principio de las curvas cinéticas, en lugar de la fase de latencia habitualmente observada como consecuencia de una etapa de inducción de daño celular, se observaría un rápido descenso en la carga bacteriana del medio acuoso. Además, existiría mucha diferencia entre las curvas cinéticas asociadas al pSil blanco y al soporte plástico gris, sobre todo en el caso del prototipo de aletas, en el que la circulación del agua es más lenta que en el reactor concéntrico. Por otra parte, se ha de recordar que al analizar la fenomenología de los procesos de inactivación en el microrreactor de laboratorio, donde el régimen laminar está asociado a una circulación muy lenta del agua, los procesos de colonización bacteriana de los materiales no son determinantes, por lo que en el caso de los prototipos solares tampoco lo deberían ser, dadas las condiciones reológicas que propician un intercambio de bacterias más eficaz

entre el agua y el material poroso de silicona. En este sentido, ya se discutió previamente que en el reactor de laboratorio existe una proporcionalidad directa entre la concentración inicial bacteriana y las tasas medias de inactivación determinadas (Tabla 20), lo que también ocurre en los prototipos solares. Así, para el caso el reactor coaxial en el que el régimen de circulación del agua, que corresponde con las condiciones más eficientes para la inactivación bacteriana (Figura 51A) es de transición-turbulento, se obtienen unas tasas en torno a 2×10^4 , $4,5 \times 10^5$ y 2×10^6 UFC $\text{h}^{-1} \text{L}^{-1}$ para una concentración inicial de *E. faecalis* de 10^2 , 2×10^3 y 10^4 UFC mL^{-1} , respectivamente. Asimismo, a través de imágenes obtenidas mediante espectroscopía de barrido, se ha comprobado que las bacterias no quedan retenidas en la red porosa de pSil o de RDP/pSil tras su empleo en los diferentes procesos de desinfección solar (Figura 72).

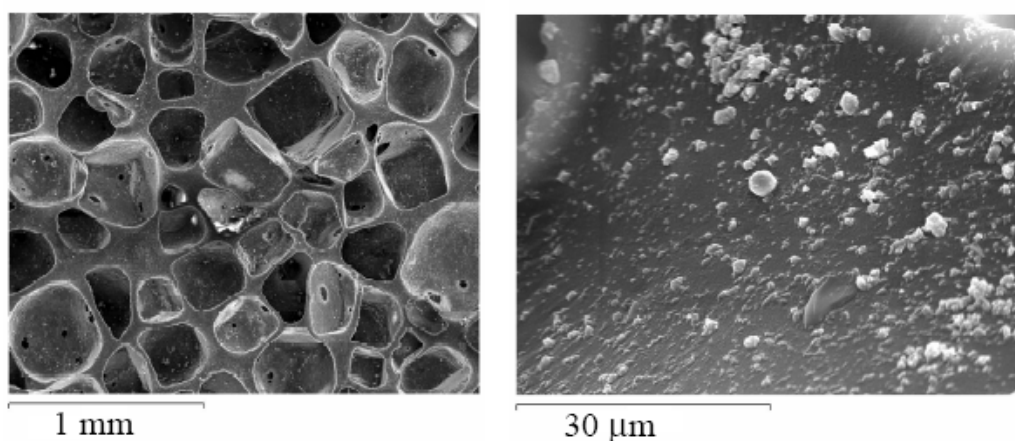


Figura 72. Imágenes del material pSil en contacto con una suspensión de *E. faecalis* 10^4 UFC mL^{-1} durante un ensayo de desinfección solar en el reactor coaxial (5 h), obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (Servicio de Microscopía Electrónica, UCM).

Una vez comprobado que la interacción polímero-bacteria no es un factor limitante en el caso de los dos reactores solares, las diferencias en el régimen de circulación del agua en ambos prototipos permiten explicar las diferentes tendencias observadas en los valores de k determinados con los materiales fotosensibilizadores. En el *reactor de aletas* el régimen de circulación del agua es laminar-transicional, lo que reduce la acción del $^1\text{O}_2$ a los microorganismos próximos a la superficie de los materiales fotosensibilizadores en comparación con el *prototipo coaxial*, en el que se favorece un mayor y más rápido intercambio de bacterias entre el seno del agua y la superficie del material sensibilizador (Esquema 4). Por ello, gracias al efecto más localizado del $^1\text{O}_2$ fotogenerado y al importante efecto bactericida de la radiación solar directa, se obtiene $k_{faecalis} \sim k_{coli}$ en el *reactor de aletas*, a igualdad de concentración bacteriana, con valores de k que aumentan al disminuir la carga bacteriana (Tabla 22). Por el contrario, en el reactor coaxial, donde la contribución del efecto de inactivación por SODIS puede considerarse poco o nada importante, se observa $k_{faecalis} > k_{coli}$, como consecuencia de una interacción más leve entre el $^1\text{O}_2$ producido y las bacterias en comparación con el

prototipo de aletas. Debido a esta cuestión reológica, junto a la minimización del efecto SODIS en el reactor concéntrico, los valores de $k_{faecalis}$ asociados a este prototipo son poco dependientes de la concentración bacteriana inicial, dado que se favorece el contacto entre el $^1\text{O}_2$ y las bacterias presentes en el seno del agua. Además, por ser gram-positivas, las *E. faecalis* son más susceptibles de ser inactivadas que *E. coli*, cuya mayor resistencia morfológica conduce a una menor inactivación bacteriana, dificultada aún más a bajas concentraciones iniciales (Figura 44C).

En cualquier caso, respecto al factor reológico, existe una mayor influencia de los diseños ópticos de ambos prototipos sobre la inactivación bacteriana, lo que conduce a que sea el reactor de aletas el prototipo con mayor eficiencia bactericida, si bien ambos prototipos permiten obtener resultados de desinfección satisfactorios.

Utilizando los mismos argumentos ya discutidos para el caso del dispositivo de laboratorio (p. 204), los materiales RDP/pSil y RDB/pSil empleados en los prototipos solares muestran un comportamiento desinfectante similar (Figura 64). De esta manera, se confirma que el $^1\text{O}_2$ generado en microentornos análogos de la silicona porosa en ambos materiales fotosensibilizadores se produce en cantidades suficientes como para que las eficiencias de inactivación bacteriana sean equivalentes. En este sentido, teniendo en cuenta que la absorción fotónica en el intervalo espectral de 360–700 nm obtenida a partir de los correspondientes espectros de absorción (p. ej. Figura 40) es similar para los dos materiales y corresponde a $\sim 6 \times 10^{23}$ fotones h^{-1} , es posible estimar la cantidad de moléculas de oxígeno singlete generadas y las que conducen a la inactivación de una bacteria a partir de las respectivas tasas de inactivación y los rendimientos cuánticos de generación de $^1\text{O}_2$ por el material utilizado en cada caso. Así por ejemplo, para una concentración de 10^4 UFC mL^{-1} de *E. coli* en el reactor coaxial, la tasa de inactivación bacteriana determinada empleando los materiales sensibilizadores corresponde a $\sim 2 \times 10^6$ UFC $\text{h}^{-1} \text{L}^{-1}$, lo que supone $\sim 2 \times 10^7$ bacterias inactivadas cada hora en el volumen de agua tratada, de donde se obtiene que por cada fotón absorbido por los materiales sensibilizadores se inactivan $\sim 3 \times 10^{-17}$ bacterias. Puesto que los rendimientos cuánticos operacionales de generación de oxígeno singlete, $\Phi_{\Delta\text{op}}$, corresponden a 2×10^{-3} y $0,8 \times 10^{-3}$ para RDP/pSil y RDB/pSil, respectivamente, para eliminar una bacteria en promedio se han generado aproximadamente 6 y $2,4 \times 10^{13}$ moléculas de $^1\text{O}_2$, respectivamente, lo que da idea de las grandes cantidades de oxígeno singlete producido, que lo son por exceso, dada la equivalencia en la capacidad de inactivación bacteriana, independientemente de si se emplea RDP/pSil ó RDB/pSil. Estos valores se pueden comparar con la estimación de $\sim 10^9$ radicales hidroxilo empleados para la inactivación por TiO_2 del mismo tipo de bacteria que la aquí estudiada, *E. coli* K12 (CECT 4624), si bien la concentración de bacterias es sensiblemente superior ($\sim 10^6$ UFC mL^{-1}) y, sobre todo, el TiO_2 empleado como fotocatalizador se encuentra en suspensión, a una concentración de $0,05 \text{ g L}^{-1}$ en un volumen reducido de 1 L .¹²⁰

Los valores de la constante cinética de inactivación k o de las tasas de inactivación bacteriana permiten comparar la eficiencia de desinfección en distintos fotoprocesos descritos en bibliografía.¹³⁸ Sin embargo, esta comparación no es fácil, puesto que para ello hay que tener en cuenta multitud de factores como el tipo de bacteria y la etapa de desarrollo en que se encuentre, los procesos de interacción entre el material desinfectante y la bacteria que, a su vez, dan lugar a importantes diferencias entre tratamientos homogéneos, heterogéneos y microheterogéneos, los diferentes mecanismos que conducen a la inactivación bacteriana (temperatura, radiación UV, efecto SODIS o fotogeneración de diferente especies químicas germicidas), la cantidad de fotocatalizador o fotosensibilizador empleados, así como su carga electrostática, la influencia de la composición química del agua sobre los procesos de desinfección, etc. No obstante, un estudio comparativo entre un complejo análogo al RDB^{2+} , el tris(2,2'-bipiridina)rutenio(II) en disolución y el TiO_2 en suspensión, bajo condiciones equivalentes, muestra que el sensibilizador de Ru(II) es más eficiente para la desinfección bacteriana.⁷⁷ Lógicamente, los procesos de desinfección en fase homogénea, donde el sensibilizador entra en contacto directo con los microorganismos, son más eficientes que cuando se emplean los sensibilizadores soportados, como se comprueba al comparar las tasas de inactivación de 10^4 UFC mL^{-1} de *E. faecalis* empleando RDP/pSil en el microrreactor ($1,3 \times 10^6 \text{ UFC h}^{-1} \text{ L}^{-1}$) y dispuesto en los reactores solares ($\sim 2 \times 10^6 \text{ UFC h}^{-1} \text{ L}^{-1}$), respecto a una tasa de $\sim 3 \times 10^6 \text{ UFC h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ correspondiente a una disolución acuosa 10^{-8} M de RDP^{2+} en el microrreactor de laboratorio.

Desinfección de agua con reactores solares ubicados en zonas rurales aisladas.

Con objeto de realizar ensayos *in situ* en comunidades rurales aisladas de regiones menos desarrolladas, se optó por la elección de un prototipo *coaxial*, por criterios operativos y económicos. Como se ha discutido anteriormente, el reactor de aletas es el prototipo que da lugar a cinéticas de desinfección más rápidas pero, debido al comportamiento típicamente sigmoide de los perfiles de inactivación bacteriana, con una última fase de suave descenso de la concentración bacteriana, los dos reactores permiten alcanzar límites de supervivencia comparables entre sí para tiempos similares de iluminación solar (H_0 equivalente). Por ello, las tasas de inactivación bacteriana obtenidas, considerando un tiempo de irradiación típico de 5 h, son muy similares para ambos tipos de bacterias y ambos prototipos solares ($\sim 2 \times 10^4 \text{ UFC h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ y $\sim 2 \times 10^6 \text{ UFC h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ para concentraciones iniciales de 10^2 UFC mL^{-1} y 10^4 UFC mL^{-1} , respectivamente, salvo en el caso de la bacteria *E. coli* ensayada en el reactor coaxial a una concentración inicial de 10^2 UFC mL^{-1} , para la que se ha obtenido una tasa de $\sim 1,6 \times 10^4 \text{ UFC h}^{-1} \text{ L}^{-1}$). La gran similitud de estos valores proviene de que, tras los intervalos de tiempo de irradiación ensayados, los límites de supervivencia alcanzados son análogos y cuantitativamente bajos (siempre inferiores al 5%, excepto un 10% para *E. coli* 10^2 UFC mL^{-1} en el prototipo coaxial), como se observa en la [Figura 44](#),

teniendo en cuenta que la supervivencia bacteriana está representada en escala semilogarítmica. Por otra parte, el reactor coaxial es un prototipo más compacto y, por lo tanto, se facilita su manejo y envío a las zonas rurales aisladas en las que ha de utilizarse. Por último, se ha de destacar que la configuración coaxial favorece el aprovechamiento fotónico respecto de la configuración de aleta, que presenta ciertas pérdidas por la geometría del sistema, como se discutió anteriormente ([apartado 2](#)). Un mayor aprovechamiento fotónico es importante, dado que en los prototipos finales desarrollados para los proyectos europeos “SOLWATER” y “AQUACAT” se ha combinado la acción fotosensibilizadora del RDP/pSil con la acción fotocatalítica del TiO_2 , con objeto de mejorar la calidad química y microbiológica del agua a tratar y, además, dotar al sistema de capacidad bacteriostática por el efecto del H_2O_2 residual generado por la fotocatálisis con TiO_2 .

Los primeros ensayos para la obtención de agua potable en el lugar de uso, en zonas rurales aisladas, se han llevado a cabo en el pueblo argentino de Los Pereyra, en la provincia de Tucumán, Argentina. Allí se ha empleado de forma satisfactoria un reactor coaxial con cuatro tubos de 1 m de largo que combina la acción fotosensibilizadora del RDP/pSil en dos tubos y la acción fotocatalítica de TiO_2 soportado en una malla de papel (Ahlstrom) en los dos tubos restantes. Dicho prototipo, mostrado en la [Figura 73](#), ha demostrado su efectividad para la desinfección de unos 20 L de agua natural de pozo con importante contaminación, tras 4 h de irradiación ([Figura 74](#)).⁵³



Figura 73. Prototipo de reactor solar autónomo para el tratamiento de agua en el punto de uso para un consumo familiar. Ensayo realizado en una comunidad rural aislada de Tucumán, Argentina (fotografía cortesía del Dr. Miguel Blesa, CNEA, Buenos Aires, Argentina).⁵³

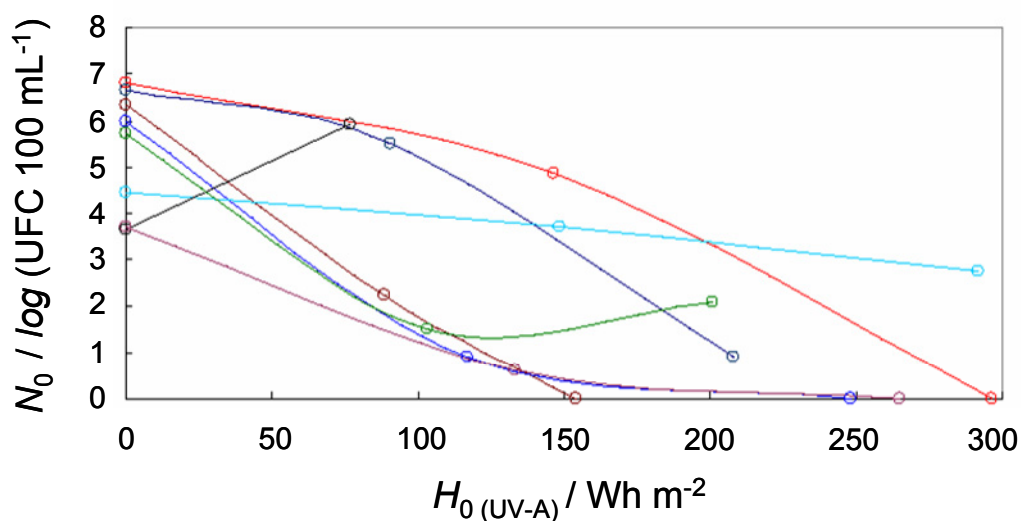


Figura 74. Resultados de una serie de ensayos de desinfección de agua natural subterránea empleando el prototipo solar mostrado en la Figura 73, cuantificados como inactivación de coliformes totales durante días de nubosidad variable. (Dada la poca variabilidad de la cantidad de radiación UV-A con respecto a la nubosidad, una dosis de radiación acumulada de unos 300 Wh m^{-2} equivale a unas 6 h de iluminación durante las horas centrales del día en Tucumán). (Datos cortesía del Dr. Miguel Blesa, CNEA, Buenos Aires, Argentina).⁵³

3.1.2. *Materiales basados en fotosensibilizadores inmovilizados electrostáticamente.*

En el apartado 1 de esta Discusión ya se describieron los procesos de fotodegradación de los materiales fotosensibilizadores basados en complejos luminiscentes de Ru(II), como consecuencia de su uso continuado durante meses. Estos procesos, indeseables pero inevitables, constituyen una limitación de los sistemas de desinfección desarrollados, dado que suponen una restricción a la autonomía de uso de los materiales fotosensibilizadores. Puesto que los procesos de fotodegradación ocurren preferencialmente sobre las moléculas de sensibilizador situadas en los entornos más hidrófobos, protegidos del medio acuoso, para tratar de aumentar la durabilidad de dichos materiales y, si fuese posible, incrementar su eficiencia fotodesinfectante, se ha ensayado la inmovilización de los sensibilizadores metal-orgánicos mediante interacciones electrostáticas sobre soportes adecuados, aprovechando las características iónicas de muchos de los complejos de rutenio. Para ello se han utilizado polímeros de silicona porosa de carácter aniónico y catiónico, pSil^- y pSil^+ , respectivamente, funcionalizados superficialmente a partir del propio pSil.¹²⁴

Como complejo de Ru(II) de carácter aniónico, se ha seleccionado el RSD^{4-} , mientras que como complejo catiónico la opción elegida ha sido el RDP^{2+} , dado que, en comparación con RDB^{2+} , este complejo es el que presenta una mayor eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$, análoga a la del RSD^{4-} .⁷³

En el caso del empleo de materiales basados en silicona funcionalizada iónicamente, la carga electrostática superficial de los respectivos materiales es un factor adicional importante a considerar con respecto a los materiales neutros basados en pSil, dado que la pared celular de las bacterias presenta carga negativa por los ácidos teicoicos y los lipopolisacáridos con que cuentan en sus estructuras las bacterias gram-positivas y gram-negativas, respectivamente (Figura 5).

Cuando se trabaja con el material **RDP/pSil⁻** en el microrreactor, empleando pSil⁻ sin teñir como control, no se observan resultados significativos de inactivación bacteriana con los materiales fotosensibilizadores que contienen menor cantidad de sensibilizador inmovilizado, L-RDP/pSil⁻ y M-RDP/pSil⁻, pero sí para el material con la mayor carga, H-RDP/pSil⁻ (Figura 58A). En el caso de estos materiales, y a diferencia de lo que sucedía en el caso de RDP/pSil, los parámetros fotoquímicos presentan una gran variación según la carga de sensibilizador, con un aumento de $P_{\text{O}_2}^T$ a medida que aumenta la cantidad de complejo fijado (Tabla 16), lo que en principio supone un mayor potencial de generación de $^1\text{O}_2$. Por otra parte, al aumentar la cantidad de RDP²⁺ incorporado se incrementa la neutralización de las cargas negativas superficiales del polímero y también se incrementa la cantidad de oxígeno singlete fotogenerado, si bien todos los materiales producen $^1\text{O}_2$ eficientemente, como se detecta mediante el registro del espectro de emisión de esta especie (Figura 57). Con objeto de corroborar las diferencias observadas en la inactivación bacteriana utilizando RDP/pSil⁻ con diferentes cantidades de sensibilizador, se ha realizado un estudio análogo al discutido previamente para el MPF/pSil, aplicando radiación solar a volúmenes reducidos de agua contenidos en cubetas de fluorescencia. En este caso, se compara la supervivencia bacteriana de *E. faecalis* (10^4 UFC mL⁻¹) empleando muestras de los tres materiales con distinta carga de sensibilizador y pSil⁻. Como se observa en la Figura 58B, tras unos 45 min de irradiación ($E \sim 400 \text{ W m}^{-2}$, 360–700 nm) se alcanza la desinfección empleando H-RDP/pSil⁻, mientras que en el caso de M-RDP/pSil⁻ se reduce la carga bacteriana en un orden de magnitud. Por su parte, tanto L-RDP/pSil⁻ como el pSil⁻ sin teñir conducen, para unas mismas condiciones, a un descenso similar y moderado de $\sim 50\%$ de la concentración bacteriana inicial. En todos los casos, excepto con pSil⁻, que no genera oxígeno singlete, los fenómenos bactericidas concurrentes son la acción del $^1\text{O}_2$ y el efecto SODIS. Como era de esperar, los mejores resultados bajo irradiación solar se obtienen a medida que aumenta la cantidad de complejo RDP²⁺ inmovilizado en pSil⁻. El grado de inactivación bacteriana por parte de la radiación solar incidente es equivalente en todos los casos y, aunque el efecto de la reflexión de luz disminuye a medida que aumenta el color de los materiales por la presencia de complejo naranja de Ru(II), es evidente que la contribución de la acción fotodinámica es creciente a medida que se incrementa la cantidad de sensibilizador. También es destacable el hecho de que los resultados obtenidos con L-RDP/pSil⁻ y pSil⁻ son coincidentes. Aunque la contribución de fotólisis directa es equivalente en ambos casos, la acción indirecta de la luz difusa reflejada sobre las bacterias próximas a los materiales poliméricos será







menos importante en el caso del material sensibilizador de baja carga, dada su coloración anaranjada en comparación con el color blanco del pSi^- . Esto implica que, o bien la contribución biocida del $^1\text{O}_2$ generado por L-RDP/pSi^- se contrarresta con la disminución de luz reflejada con respecto a pSi^- , o bien las bacterias no presentan afinidad hacia la superficie del material L-RDP/pSi^- ni del pSi^- , de manera que el efecto germicida dominante sería simplemente el efecto SODIS.

Para entender la diferencia de resultados obtenidos al emplear los materiales L-RDP/pSi^- y M-RDP/pSi^- en el microrreactor y bajo irradiación solar, en comparación con los resultados de H-RDP/pSi^- , hay que considerar los fenómenos de repulsión electrostática entre ambos materiales y las bacterias. En el dispositivo de laboratorio, el régimen de circulación es laminar, de manera que si la carga superficial de los materiales es marcadamente negativa, los microorganismos presentes en la capa de líquido más próxima a los materiales sensibilizadores se dispondrán alejados de la superficie del material y, por tanto, de los sitios de generación de $^1\text{O}_2$. Por ello, aunque la cantidad de oxígeno singlete producida sea cuantitativamente elevada, sobre todo en el caso de M-RDP/pSi^- (cuya carga de complejo es de $1,15 \text{ g m}^{-2}$ frente a los 2 g m^{-2} correspondientes a RDP/pSi), dicha especie reactiva no alcanzará a los microorganismos “diana”, teniendo en cuenta su reducido tiempo de vida en la fase acuosa, que permite un recorrido libre medio de $0,1 \text{ }\mu\text{m}$, siendo ineficaz su acción bactericida. Sin embargo, en el caso de las cubetas irradiadas con luz solar, al existir agitación, se favorece el contacto entre las bacterias y el $^1\text{O}_2$ generado, a no ser que el material produzca muy poca cantidad de oxígeno singlete y/o posea gran cantidad de carga negativa superficial neta, como podría ser el caso de L-RDP/pSi^- .

Por otro lado, el material H-RDP/pSi^- da lugar a una inactivación bacteriana muy eficiente, tanto bajo irradiación solar, como en el dispositivo de laboratorio. Estudiando la fotodesinfección asociada a este material en el **microrreactor de laboratorio**, los resultados representados en la [Figura 58A](#) muestran una elevada eficiencia antibacteriana en comparación con los experimentos de control (pSi^- irradiado y bajo condiciones de oscuridad). Este hecho se puede atribuir a una compensación de las cargas negativas superficiales del polímero por parte del sensibilizador catiónico, de manera que no existe repulsión electrostática entre el material fotosensibilizador y las bacterias y se favorece un contacto íntimo entre el $^1\text{O}_2$ fotogenerado y las bacterias a eliminar.

Las tasas medias de inactivación de 10^4 UFC mL^{-1} de *E. faecalis* determinadas para los distintos materiales basados en pSi funcionalizado iónicamente en el dispositivo de laboratorio, en comparación con el valor correspondiente a RDP/pSi , se muestran en la [Tabla 23](#).

Tabla 23. Tasas medias de inactivación de *E. faecalis* a una concentración inicial de 10^4 UFC mL $^{-1}$, empleando materiales sensibilizadores basados en complejos de Ru(II) inmovilizados sobre pSil neutro y pSil funcionalizado iónicamente, irradiados en el microrreactor de laboratorio ($E = 20 \text{ W m}^{-2}$).

Material		Tasa / UFC h $^{-1}$ L $^{-1}$
RDP/pSil		$1,3 \times 10^6$
RSD/pSil $^+$		$3,2 \times 10^5$
L-RDP/pSil $^-$		δ
M-RDP/pSil $^-$		δ
H-RDP/pSil $^-$		$2,4 \times 10^6$
H-RDP/pSil $^-$ ^a		δ

^a Material sometido a 8 procesos de tratamiento en autoclave.^b Valores sin diferencia significativa respecto a los obtenidos con los correspondientes polímeros sin teñir ($\sim 2 \times 10^5$ UFC h $^{-1}$ L $^{-1}$).

El material H-RDP/pSil $^-$ se muestra como un material desinfectante más eficaz que el RDP/pSil. De acuerdo con los resultados mostrados en las Figuras 58A y 63A, si se comparan las tasas de inactivación bacteriana asociadas a ambos materiales sensibilizadores, se obtienen unos valores respectivos de $2,4 \times 10^6$ vs. $1,3 \times 10^6$ UFC h $^{-1}$ L $^{-1}$ para una concentración inicial de *E. faecalis* de 10^4 UFC mL $^{-1}$, que para las condiciones experimentales estudiadas en el microrreactor supone alcanzar la desinfección en unas 4 h empleando H-RDP/pSil $^-$ frente a unas 8 h con RDP/pSil. Esta mayor eficiencia en el proceso de inactivación bacteriana por parte de H-RDP/pSil $^-$ se debe, en parte, a la gran cantidad de $^1\text{O}_2$ producido, puesto que su carga de RDP $^{2+}$ corresponde a $4,4 \text{ g m}^{-2}$ frente a los 2 g m^{-2} inmovilizados por adsorción sobre pSil. Además, de acuerdo con lo discutido previamente a partir del estudio de parámetros como τ_A , el material basado en pSil $^-$ permite una inmovilización más superficial del fotosensibilizador debido a los grupos funcionales aniónicos superficiales, por lo que se favorece la interacción entre el oxígeno singlete fotogenerado y los microorganismos “diana” presentes en la fase acuosa. Por tanto, una vez minimizados o anulados los efectos de repulsión de carga sobre los microorganismos, el proceso de fotosensibilización en fase heterogénea empleando materiales basados en pSil $^-$ puede considerarse como un importante avance sobre la eficiencia de la desinfección heterogénea asociada a los materiales basados en pSil. Sirva como dato comparativo la tasa de inactivación de 3×10^6 UFC h $^{-1}$ L $^{-1}$ asociada a una concentración 10^{-8} M de complejo de Ru(II) en agua contaminada con 10^4 UFC mL $^{-1}$ de *E. faecalis*, lo que

permitiría alcanzar condiciones de desinfección en, aproximadamente, unas 3 h de iluminación.

Por otra parte, cuando se utiliza el material **RSD/pSil⁺** en el microrreactor, se necesita un tiempo elevado de irradiación con la lámpara de Xe (unas 20 h), para alcanzar niveles de inactivación bacteriana superiores al error estadístico, en comparación con el polímero pSil⁺ sin teñir (Figura 59A). En el caso de los materiales basados en pSil⁺ ocurre la situación inversa respecto a los materiales RDP/pSil⁻ estudiados, dado que si por inmovilización del complejo aniónico se consigue anular la carga neta positiva de la superficie del material, las bacterias tenderán a no interaccionar con el material fotosensibilizador, lo que en este caso supondría una desventaja operacional.

Para evaluar el efecto de la posible retención de microorganismos sobre la superficie de los materiales basados en pSil⁺ y su influencia sobre fenómenos biocidas como la acción fotodinámica o la reflexión de luz, se ha llevado a cabo el estudio comparativo de inactivación bacteriana entre pSil, pSil⁺ y pSil⁻, todos ellos iluminados. En el microrreactor de laboratorio, en el que el régimen de circulación del agua es laminar, no se observan diferencias significativas entre los distintos materiales de soporte, dado que el efecto de la reflexión de la radiación sobre las bacterias es poco significativo. Sin embargo, cuando se somete a radiación solar a los materiales sin teñir, en contacto con agua agitada con objeto de favorecer el contacto entre las bacterias contenidas en el medio acuoso y los materiales de silicona, sí se observan ciertas diferencias. El efecto directo de la radiación solar que atraviesa el agua (efecto SODIS) es equivalente empleando los tres materiales irradiados, mientras que el efecto de fotólisis bacteriana debido a la radiación solar reflejada por los polímeros porosos de color blanco es más efectivo si las bacterias se encuentran atraídas hacia el material (pSil⁺) que si no lo están (pSil), y aún más en el caso de que existan fenómenos de repulsión de carga (pSil⁻), como se extrae de las Figuras 59B y 71.

Tras descartar que la reducción en la carga bacteriana empleando el microrreactor se deba a la retención de bacterias por parte de los materiales basados en pSil⁺, se puede concluir que los pobres resultados de inactivación bacteriana obtenidos con el material RSD/pSil⁺ son debidos a la baja cantidad de RSD⁴⁻ fijado sobre pSil⁺ (apenas 0,03 g m⁻²), lo que es debido al gran carácter hidrófilo del sensibilizador. A pesar de que los microorganismos situados en las capas más próximas de la fase acuosa con respecto a la superficie del material puedan verse atraídos electrostáticamente hacia los sitios de fotogeneración del $^1\text{O}_2$, la cantidad de dicha especie reactiva producida es demasiado pequeña como para ser realmente eficiente. Como dato comparativo, la tasa de inactivación bacteriana correspondiente a este material, para una concentración inicial de *E. faecalis* de 10⁴ UFC mL⁻¹, es unas 8 veces inferior a la del H-RDP/pSil⁻ para las mismas condiciones (Tabla 23). Para aumentar la eficiencia de los procesos de inactivación bacteriana con este soporte, sería necesario seleccionar un fotosensibilizador aniónico de elevado rendimiento cuántico de producción de $^1\text{O}_2$ y

mayor grado de hidrofobicidad, de modo que la cantidad de complejo fijada fuese lo bastante elevada como para producir suficiente $^1\text{O}_2$ pero sin compensar por completo la carga neta positiva de la superficie del material. En cualquier caso, es reseñable la obtención de un resultado positivo de inactivación bacteriana empleando un fotosensibilizador de marcado carácter aniónico como es RSD^{4-} que, en fase homogénea, conduce a una acción fotodinámica del todo ineficaz,¹³⁷ a pesar de su elevada eficiencia de generación de oxígeno singlete.




Debido a la presencia de grupos amino en el **MPF**, que en medio acuoso son susceptibles de experimentar protonación, lo que convierte a este derivado del C_{60} en un catión, se ha inmovilizado dicho sensibilizador sobre pSi^- con objeto de estudiar un posible incremento en las propiedades fotodesinfectantes, en comparación con el material MPF/pSi . Ya se discutió anteriormente la poca eficiencia del material MPF/pSi para la inactivación bacteriana, consecuencia de la baja eficiencia de desactivación de su estado excitado por el O_2 . Sin embargo, la inmovilización de dicho fotosensibilizador en un entorno algo más hidrófilo, que permita un contacto más íntimo entre el sensibilizador y los microorganismos a eliminar, podría conducir a una mejora de las propiedades biocidas por parte de **MPF/pSi^-** , como sucede en el caso del material H-RDP/pSi^- con respecto a RDP/pSi . No obstante y a pesar de fotogenerar $^1\text{O}_2$ (Figura 67B), el material basado en silicona porosa funcionalizada no da lugar a mejoras significativas en la inactivación bacteriana con respecto al experimento de control (pSi^-) en el dispositivo de laboratorio. Adicionalmente, cuando se ha estudiado la supervivencia bacteriana empleando MPF/pSi^- expuesto a radiación solar y en contacto con volúmenes reducidos de agua contaminada bacteriológicamente y agitada, la cinética de inactivación bacteriana asociada ha sido incluso más lenta que las obtenidas con MPF/pSi y pSi^- en condiciones equivalentes (Figura 71). El marcado color parduzco de MPF/pSi^- reduce los fenómenos de reflexión de luz con respecto al soporte pSi^- de color blanco, limitando el alcance de la radiación solar reflejada. Por otra parte, a pesar de que la cantidad de $^1\text{O}_2$ fotogenerado por MPF/pSi^- sea superior a la producida por el material MPF/pSi , dado el incremento de carga de sensibilizador inmovilizado (1,5 vs. 0,5 g m^{-2}), este comportamiento indica, de manera análoga a lo que sucedía con los materiales RDP/pSi^- de baja carga, que existen fenómenos de repulsión electrostática entre MPF/pSi^- y las bacterias a inactivar. Por tanto, la cantidad de MPF inmovilizado sobre pSi^- , la cual está limitada por la gran hidrofobicidad de este compuesto, no sería suficiente como para anular las cargas negativas superficiales del soporte funcionalizado.

A diferencia de los materiales basados en pSi sin funcionalizar, la gran limitación de los materiales basados en pSi funcionalizado proviene de la interacción electrostática poco robusta entre los fotosensibilizadores y los materiales poliméricos funcionalizados con grupos iónicos. Así, la poca resistencia al lavado de los materiales iónicos preparados se aprecia cuando los materiales basados en complejos de Ru(II) son sometidos a procesos de esterilización en autoclave (121 °C, 2 atm, 16 min). En la

Tabla 13 se muestra la evolución de los parámetros fotoquímicos del material H-RDP/pSi $^-$ a medida que éste es sometido a dichos procesos, de manera que sus valores se vuelven progresivamente comparables a los de los materiales de menor carga (**Tabla 16**). El tratamiento en autoclave conduce a una merma de la capacidad del material para la inactivación bacteriana, debido a que el lavado de sensibilizador limita la producción de $^1\text{O}_2$ y favorece la repulsión electrostática con los microorganismos en el caso del polímero pSi $^-$.

En la **Tabla 24** y de acuerdo con los resultados discutidos, se resumen de forma cualitativa una serie de criterios operacionales que permiten determinar la idoneidad de los materiales para su empleo a mayor escala.

Tabla 24. Resumen de la influencia de diferentes características de los materiales fotosensibilizadores de trabajo para su uso práctico en la fotodesinfección de agua doméstica (++ muy ventajoso; + ventajoso; – poco ventajoso y/o limitante).

<i>Material</i>		<i>Carga</i>	$P_{\text{O}_2}^T$	τ_Δ	<i>Resistencia autoclave</i>	<i>Foto-estabilidad</i>	<i>Escalado</i>	<i>Inact. bacteriana</i>
RSD/pSi$^+$		–	+	+	–	+	++	–
RDP/pSi$^-$		++	++	+	–	+	++	++
MPF/pSi$^-$		+	–	+	a	a	++	–

a Parámetro no estudiado, dada la poca eficiencia para la inactivación bacteriana por parte de este material fotosensibilizador.

A pesar de que H-RDP/pSi $^-$ se muestra como un excelente material fotosensibilizador para la desinfección, no se ha procedido a su escalado e implementación en los prototipos solares de desinfección debido a la limitada resistencia de este material al lavado. Para superar los problemas de estabilidad asociados a esta familia de materiales, la solución más eficaz sería la inmovilización covalente entre los fotosensibilizadores y los soportes funcionalizados, al tratarse de una unión mucho más robusta que la interacción electrostática. En cuanto a la ineficiencia fotodesinfectante del material MPF/pSi $^-$, que lo descarta para llevar a cabo el fototratamiento de agua, dicha limitación podría ser superada a través de una apropiada modulación de la solubilidad y de las propiedades fotoquímicas y electrostáticas de los derivados de C_{60} , a través de una adecuada modificación de la estructura química del fullereno.

3.1.3. *Materiales basados en fotosensibilizadores adsorbidos y agregados.*

Los materiales sensibilizadores basados en pSi $^-$ y C_{60} en los que se observa la presencia de moléculas adsorbidas junto con agregados nano- y micrométricos (C_{60} /pSi $^-$), así como los materiales fotosensibilizadores basados en pSi $^-$ recargado con complejo RDP^{2+} , esto es, **RDP/pSi $^-$ -r**, generan $^1\text{O}_2$ de manera eficiente por irradiación (**Figura**

67A y Figura 62D, respectivamente). Ambos tipos de materiales no son tóxicos por sí mismos, dado que no afectan a la supervivencia bacteriana bajo condiciones de oscuridad (datos no mostrados). Sin embargo, los resultados obtenidos bajo irradiación son muy diferentes. Mientras que el material RDP/pSil-r se muestra muy efectivo como material fotodesinfectante, tal y como se discutirá posteriormente, los materiales C_{60} /pSil, independientemente de la cantidad y de la disposición del fullereno incorporado, se muestran ineficaces para mejorar la calidad microbiológica del agua bajo iluminación solar, a pesar de generar $^1\text{O}_2$ con un tiempo de vida muy largo. Cuando estos se irradian en el microrreactor de laboratorio, no se observan diferencias cuantificables con respecto al pSil sin teñir usado como control. Por otra parte, si los materiales C_{60} /pSil, de marcado color oscuro, se disponen en contacto con radiación solar y agua contaminada con bacterias los resultados son negativos, análogamente a los obtenidos con MPF/pSil⁻, puesto que se obtienen mejores resultados con el polímero sin teñir que con los propios materiales sensibilizadores. Teniendo en cuenta que el C_{60} /pSil genera $^1\text{O}_2$ eficazmente, y que siempre existe el efecto SODIS de la radiación solar, empleando este material deberían obtenerse resultados de inactivación muy superiores a los obtenidos empleando un material con ciertas similitudes como es el MPF/pSil bajo irradiación solar (Figura 71). El hecho de que no se obtengan resultados satisfactorios con C_{60} /pSil puede obedecer a efectos de repulsión electrostática superficial con las bacterias, si se tiene en cuenta que el C_{60} en contacto con agua presenta carácter aniónico, probablemente por poseer una capa externa hidroxilada.^{240,241} En consecuencia, el material C_{60} /pSil se muestra totalmente ineficaz como material fotodesinfectante, a pesar de generar $^1\text{O}_2$ con largo tiempo de vida (ms) y elevado rendimiento cuántico ($\Phi_A \sim 1$).

Por otra parte, con objeto de aumentar la durabilidad de los materiales fotosensibilizadores basados en complejos de Ru(II) inmovilizados sobre pSil, se ha procedido a la **recarga** con más cantidad de sensibilizador de los materiales basados en pSil que previamente han sido empleados, de manera continuada y satisfactoria, en los procesos de desinfección bacteriana con los prototipos solares para el tratamiento de agua. Inevitablemente, la acción prolongada de la radiación solar conduce a la fotodegradación del sensibilizador, como se ha comentado previamente en el subapartado 1.1. Sin embargo, la acción de la radiación luminosa no afecta al polímero de silicona porosa. Esto se debe a la ausencia de grupos funcionales capaces de reaccionar con el oxígeno singlete, lo que convierte al pSil en un polímero robusto, permitiendo que pueda ser recargado con cantidades adicionales de sensibilizador.

Ya se discutió con anterioridad la mayor fotoestabilidad del RDB/pSil en comparación con el material basado en RDP²⁺ (Figura 54). En este sentido, se ha de destacar que el RDP/pSil no ha mostrado una reducción en la eficiencia de inactivación bacteriana tras ser sometido a una dosis de radiación acumulada de unos 500 MJ m^{-2} (360–700 nm), lo

cual corresponde a un uso continuado de unos 3 meses bajo iluminación con radiación solar correspondiente a la latitud de Madrid ($E \sim 400 \text{ W m}^{-2}$, 360–700 nm).

La fotodegradación de los materiales fotosensibilizadores se puede constatar, no sólo por ligeros cambios visuales en la coloración de los materiales de trabajo, sino a través de la reducción en la señal de luminiscencia característica del estado excitado del sensibilizador y por ligeras modificaciones en ciertos parámetros operacionales como τ_{M0} , ya discutidas en el apartado 1 de esta [Discusión Integradora](#) (Tabla 16). Sin embargo, el hecho de que, hasta donde se ha estudiado, no se haya observado una merma en la eficiencia de inactivación bacteriana empleando el material RDP/pSil, indica el mantenimiento de una gran capacidad de fotogenerar $^1\text{O}_2$ en (micro)entornos equivalentes e igualmente favorecidos para el contacto con los microorganismos. No obstante, es indudable que una irradiación prolongada de los materiales fotosensibilizadores conducirá a un límite de fotodegradación de sensibilizador, superado el cual, la eficiencia de desinfección comenzará a disminuir.

A partir del material envejecido por irradiación durante un largo periodo de tiempo, se ha preparado el material recargado **RDP/pSil-r**. La eficiencia de fotoinactivación bacteriana de este material se ha comparado con respecto a RDP/pSil y RDB/pSil, tanto en el microrreactor como en el reactor coaxial.




Los resultados de inactivación bacteriana del material RDP/pSil-r con respecto a RDP/pSil y RDB/pSil en el **microrreactor** son similares ([Figura 63](#)), obteniéndose unas tasas medias de inactivación de *E. faecalis* equivalentes con los tres materiales (ver [Tabla 20](#)). Esto implica un contacto efectivo y equivalente entre el $^1\text{O}_2$ producido por los tres materiales sensibilizadores y las bacterias situadas en el entorno próximo a los puntos de su generación, bajo las condiciones laminares de trabajo en el microrreactor.

Una vez comprobada la eficiencia desinfectante de RDP/pSil-r en el microrreactor y su resistencia al lavado del sensibilizador al medio acuoso, se ha procedido a confirmar su efectividad a una mayor escala. Para ello se han llevado a cabo experimentos en el **reactor coaxial**, puesto que, por las cuestiones de diseño ya discutidas, se trata del prototipo en el que los procesos de fotosensibilización objeto de estudio poseen una mayor contribución sobre la inactivación bacteriana y, además, en este reactor se favorece un mayor contacto entre los microorganismos a eliminar y el material fotosensibilizador. Partiendo de los resultados previos de inactivación de *E. faecalis* a concentraciones de 10^2 y 10^4 UFC mL^{-1} , se ha evaluado la inactivación de *E. faecalis* a una concentración intermedia de $2 \times 10^3 \text{ UFC mL}^{-1}$, empleando RDP/pSil-r en comparación con los materiales RDP/pSil-a y RDB/pSil sin irradiar previamente.

De acuerdo con la [Figura 64](#), bajo estas condiciones operacionales, el material RDP/pSil-r muestra una capacidad de inactivación bacteriana muy superior a la del resto de materiales fotosensibilizadores que presentan una eficiencia similar entre sí,

como se desprende de las constantes cinéticas de inactivación de *E. faecalis* asociadas a dichos materiales que figuran en la [Tabla 25](#).

Tabla 25. Constantes cinéticas de inactivación de *E. faecalis* ($N_0 = 2 \times 10^3$ UFC mL $^{-1}$) empleando RDB/pSil, RDP/pSil y RDP/pSil-r como materiales fotosensibilizadores en el reactor coaxial.

<i>Material</i>		<i>k</i> / MJ $^{-1}$ m 2 L
RDB/pSil		4,7
RDP/pSil-a		5,2
RDP/pSil-r		21,1

Para poder explicar el distinto comportamiento observado entre el dispositivo de laboratorio y el reactor solar hay que considerar la disposición más superficial y en un entorno más hidrófilo del RDP $^{2+}$ adicionado sobre el polímero poroso de silicona durante el proceso de recarga, como se desprende de las diferencias discutidas en el [apartado 1](#) de esta parte de [Discusión](#) ([Tabla 16](#), [Figura 60](#)), junto a diferencias en las condiciones de circulación del agua a tratar en los dos sistemas. Las condiciones laminares con las que circula el agua en el microrreactor de laboratorio conducen a que la cantidad de bacterias sobre las que puede actuar eficazmente el $^1\text{O}_2$ generado por los diferentes materiales sea, en la práctica, similar. Sin embargo, bajo condiciones reológicas favorables, se favorecerá un mayor contacto entre el $^1\text{O}_2$ y las bacterias presentes en el seno de la fase acuosa cuando las moléculas de RDP $^{2+}$ se encuentran dispuestas preferencialmente en la superficie del material, lo que ocurre de manera significativa en el material RDP/pSil-r, independientemente de que el fotosensibilizador se encuentre en forma molecular o bien agregado en forma de cristales micrométricos ([Figura 60](#)).

En función de los valores de las constantes cinéticas de inactivación bacteriana observadas en el reactor concéntrico ([Tabla 25](#)), el material RDP/pSil-r muestra una eficiencia desinfectante unas 4 veces superior a la del resto de los materiales fotosensibilizadores. El hecho de que RDB/pSil y RDP/pSil-a, materiales basados en sensibilizadores adsorbidos y con microentornos equivalentes de generación del $^1\text{O}_2$, tengan una eficiencia de desinfección similar entre sí ([Tabla 25](#)) y equivalente a la obtenida con RDP/pSil para diferentes concentraciones iniciales (N_0) de *E. faecalis* ([Tabla 22](#)), confirma que los valores de $k_{faecalis}$ asociados a este prototipo son poco dependientes de N_0 , debido a unas condiciones de circulación del agua que favorecen un rápido contacto entre el $^1\text{O}_2$ producido y las bacterias que, por ser gram-positivas, son muy susceptible de ser inactivadas.

Empleando el material recargado en el prototipo concéntrico es posible alcanzar la desinfección para valores de Q a partir de $0,3 \text{ MJ m}^{-2} \text{ L}^{-1}$ (360–700 nm). Esta dosis de radiación equivale a un tiempo de irradiación de aproximadamente 2–3 h para días soleados a la latitud correspondiente a Madrid, en lugar de las 5–6 h a que equivalen los $\sim 0,8 \text{ MJ m}^{-2} \text{ L}^{-1}$ (360–700 nm) necesarios con los demás materiales fotosensibilizadores. Es decir, no sólo se confirma la posibilidad de aumentar la durabilidad de los materiales fotosensibilizadores basados en pSil y complejos luminiscentes de Ru(II) a través de su recarga con sensibilizador y reutilización, sino que, además, *a través de dicho reciclaje se mantiene o incrementa su efectividad fotodesinfectante.*

3.2. Inactivación bacteriana por fotosensibilizadores en fase homogénea vs. fase microheterogénea.

En el proceso de tratamiento en autoclave del material $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ se ha observado la formación de suspensiones de C_{60} en forma de agregados de escala nanométrica, abreviados como nC_{60} . Dichas suspensiones acuosas presentan una elevada estabilidad debida a la carga negativa superficial que presentan las partículas en el seno del agua. Según describe la bibliografía, las suspensiones acuosas de nC_{60} a bajas concentraciones, del orden de las ppm, poseen un probado carácter germicida sobre diferentes tipos de células, a diferencia del fullereno.^{122,123,241} Los mecanismos de toxicidad del nC_{60} no están aún claros y pueden deberse a procesos de oxidación directa por parte del propio nC_{60} (aunque hay que remarcar que tanto los nanoagregados como las bacterias poseen carga superficial negativa), o bien a residuos de disolvente procedentes de la preparación de las dispersiones o a productos de oxidación provenientes de dichos disolventes por efecto del carácter oxidante del propio fullereno, así como a la fotogeneración de especies reactivas del oxígeno que conducen a que las suspensiones de nC_{60} sean fototóxicas. Entre los numerosos estudios recientes, los hay que afirman y niegan los diferentes mecanismos de toxicidad,^{245,246} por lo que, probablemente, sea la suma de varios de estos fenómenos la que conduce a que el nC_{60} sea un probado agente biocida a muy bajas concentraciones.²⁴⁹ Por otra parte, hay que destacar que los niveles de toxicidad de las suspensiones de nC_{60} varían en función de factores como el método de su preparación o el tamaño de los nanoagregados.^{240,244} En este sentido, es interesante estudiar los límites de *citotoxicidad* de las suspensiones de nC_{60} generadas por este nuevo método, entendiendo por citotoxicidad la toxicidad debida a efectos directos o indirectos asociados a la capacidad oxidante del propio fullereno en oscuridad. Por su parte, los complejo de Ru(II) como el RDP^{2+} no presentan problemas de citotoxicidad cuando se utilizan en concentraciones en el orden de 10^{-9} M .²¹² En la bibliografía reciente se ha comprobado que los sensibilizadores metal-orgánicos basados en Ru(II) no son capaces de penetrar la membrana de células

²⁴⁹ Usenko, C. Y., Harper, S. L., Tanguay, R. L. “*In Vivo Evaluation of Carbon Fullerene Toxicity Using Embryonic Zebrafish*”, Carbon, **2007**, 1891–1898.

viables y,¹²¹ por otra parte, se ha confirmado previamente la falta de citotoxicidad de los materiales fotosensibilizadores basados en Ru(II) descritos en este trabajo cuando se emplean bajo condiciones de oscuridad (ver p. ej. [Figura 37](#)). Consecuentemente, para considerar únicamente la acción fotodinámica correspondiente al nC_{60} es necesario rebajar su concentración en la fase acuosa hasta suprimir los correspondientes efectos citotóxicos. Bajo esta premisa, será posible comparar ambos tipos de fotosensibilizador únicamente desde el punto de vista de la generación de especies reactivas del oxígeno, lo que aquí se denomina **fototoxicidad**, si bien las suspensiones acuosas de fullereno constituyen, en realidad, un sistema microheterogéneo, frente al sistema homogéneo correspondiente a los complejos de rutenio disueltos en el agua.

Los diferentes estudios de inactivación bacteriana, se han llevado a cabo empleando nC_{60} y RDP^{2+} en muestras de agua contaminada con *E. faecalis* y *E. coli* a una concentración inicial de 2×10^3 UFC mL^{-1} . Mediante dilución de suspensiones de nC_{60} de las características descritas anteriormente ([subapartado 1.3](#)), obtenidas a partir de los materiales $\text{C}_{60}/\text{pSil}$ en una concentración máxima de aproximadamente 5 ppm, lo que supone una concentración equivalente a 7 μM , se han determinado unos límites de citotoxicidad de 30 y 300 nM para *E. faecalis* y *E. coli*, respectivamente. Por debajo de estos límites y bajo condiciones de oscuridad, no se observan diferencias estadísticas entre la supervivencia bacteriana asociada a suspensiones acuosas de nC_{60} con respecto a únicamente agua bacteriológicamente contaminada, tras periodos de tiempo suficientemente prolongados (unas 15 h). El hecho de que el límite de citotoxicidad asociado a *E. coli* sea muy superior al correspondiente a *E. faecalis* pone nuevamente de manifiesto la mayor vulnerabilidad de la bacteria *E. faecalis*.

En la [Figura 75](#) se muestran los resultados de inactivación de ambos tipos de bacteria en suspensiones con concentraciones de nC_{60} superiores a los correspondientes límites de toxicidad descritos (50 y 500 nM para *E. faecalis* y *E. coli*, respectivamente) y en agua sin nC_{60} como experimento de control, tanto en presencia de radiación como en la oscuridad en el microrreactor.

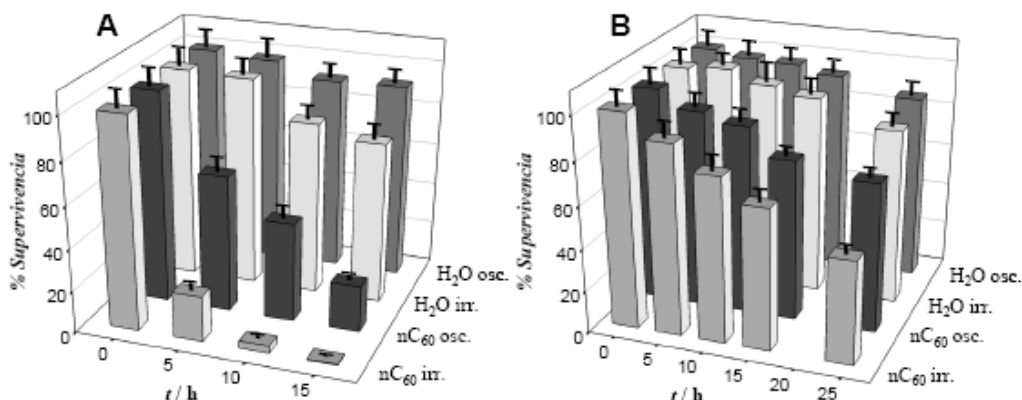


Figura 75. Evolución de carga bacteriana ($N_0 = 2 \times 10^3$ UFC mL^{-1}) en presencia de nanopartículas de C_{60} en forma de suspensión acuosa en comparación con agua, bajo irradiación y en condiciones de oscuridad. Las concentraciones de nC_{60} son 50 nM para *E. faecalis* (A) y 500 nM para *E. coli* (B). Fuente de irradiación: lámpara de Xe de 150 W.

Ambos tipos de bacteria sufren una disminución significativa de la carga bacteriana tras periodos prolongados de contacto (unas 15 h) con nC_{60} en condiciones de oscuridad, debido a la citotoxicidad del fullereno nanoparticulado. Sin embargo, con las muestras equivalentes bajo irradiación para ambos tipos de bacteria, se obtienen resultados de menor supervivencia.

Tras delimitar los límites de citotoxicidad de las muestras de nC_{60} para ambos tipos de bacteria, se puede comparar la eficiencia de fotosensibilización entre nC_{60} y RDP^{2+} . Como se discutió en el [subapartado 1.3](#), la relación de densidad óptica de ambos sensibilizadores en disolución a la misma concentración en la región de interés (360–700 nm) es de 10:1 favorable al RDP^{2+} . De esta manera, manteniendo la concentración de nC_{60} en límites inferiores a los de citotoxicidad, es posible comparar los resultados de inactivación bacteriana desde el punto de vista de la acción fotodinámica. Para ello, se han de emplear dispersiones acuosas de nC_{60} y disoluciones de RDP^{2+} en agua que mantengan una relación en la concentración de 10:1 a favor del nC_{60} .

En la [Figura 76](#) se muestran los resultados de fotodesinfección asociados a una concentración inicial de 2×10^3 UFC mL^{-1} de *E. faecalis* (3 y 30 nM de RDP^{2+} y nC_{60} , respectivamente) y de *E. coli* (30 y 300 nM de RDP^{2+} y nC_{60} , respectivamente), estudiados en el microrreactor.

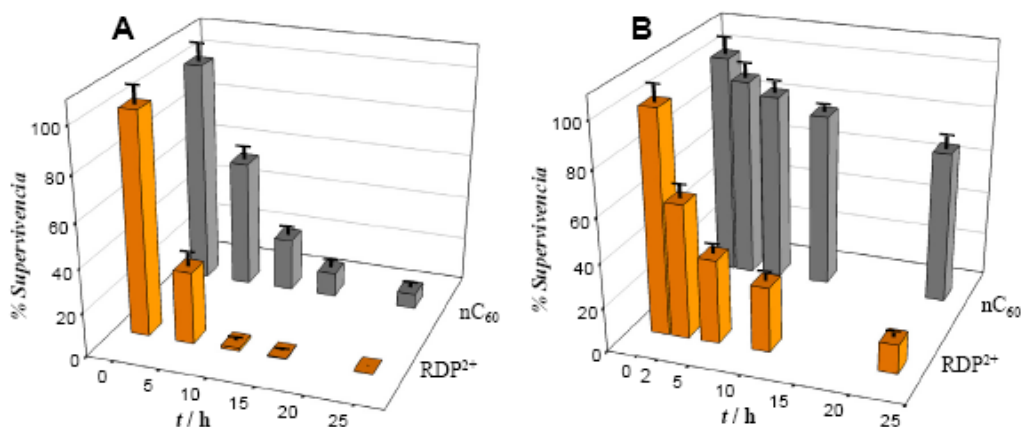


Figura 76. Evolución de concentración bacteriana ($N_0 = 2 \times 10^3$ UFC mL⁻¹) en presencia de RDP²⁺ en comparación con una suspensión de nC₆₀, bajo iluminación (fuente de irradiación: lámpara de Xe de 150 W). Las concentraciones de fotosensibilizador en medio acuoso en contacto con *E. faecalis* son 3 y 30 nM para RDP²⁺ y nC₆₀, respectivamente (A), y para *E. coli* son 30 y 300 nM para RDP²⁺ y nC₆₀, respectivamente (B).

Las tasas medias de inactivación de *E. faecalis* obtenidas con nC₆₀ y RDP²⁺ corresponden a $0,8 \times 10^5$ y $1,4 \times 10^5$ UFC h⁻¹ L⁻¹, respectivamente, mientras que, en el caso de *E. coli*, los correspondientes valores de este parámetro corresponden, respectivamente, a $0,3 \times 10^5$ y $0,8 \times 10^5$ UFC h⁻¹ L⁻¹. Para ambos tipos de bacteria, las mayores tasas de inactivación se obtienen empleando RDP²⁺.

Definiendo Φ como la eficiencia de fotodesinfección de los sensibilizadores con respecto al número de fotones absorbidos, es posible comparar las correspondientes eficiencias de desinfección para cada una de las bacterias, empleando para ello las tasas de inactivación determinadas previamente. De esta manera, para los resultados de desinfección obtenidos bajo las condiciones de equivalencia de absorción fotónica por parte de RDP²⁺ y nC₆₀ mostrados en la Figura 76, se obtiene un valor de $\Phi_{\text{RDP}}/\Phi_{\text{nC60}}$ de 1,7 y 2,7 para *E. coli* y *E. faecalis*, respectivamente, como resultado de las relaciones entre las tasas medias de inactivación asociadas a cada bacteria. Estos valores se pueden corregir por los correspondientes rendimientos cuánticos de generación de $^1\text{O}_2$ (Φ_Δ), asumiendo unos valores de $\sim 0,5$ y ~ 1 para RDP²⁺ y nC₆₀ en medio acuoso, de donde se obtienen unas relaciones $\Phi_{\text{RDP}}/\Phi_{\text{nC60}}$ corregidas de 3,4 y 5,3 para *E. coli* y *E. faecalis*, respectivamente. Es decir, el RDP²⁺ es unas 2–3 veces más eficiente que el nC₆₀ para inactivar *E. faecalis* y unas 3–5 veces más eficiente que nC₆₀ para inactivar *E. coli*, siendo la diferencia entre ambos sensibilizadores mayor en el caso de la bacteria gram-negativa, más resistente a agentes biocidas, como por ejemplo, las especies reactivas del oxígeno.

Las notables diferencias en la fototoxicidad asociada a ambos fotosensibilizadores, una vez suprimidos los efectos citotóxicos, pueden explicarse por efecto de la

repulsión/atracción electrostática entre el fotosensibilizador y los microorganismos. El complejo de Ru(II), dado su marcado carácter catiónico, generará $^1\text{O}_2$ en contacto directo con la pared de las bacterias a inactivar, por lo que la acción de la especie reactiva generada será muy localizada y, por tanto, eficaz. Por su parte, las nanopartículas de nC_{60} , de carga superficial negativa, se mantendrán alejadas de las bacterias “diana” por lo que, independientemente de que se genere $^1\text{O}_2$ de una manera muy eficiente, su reactividad se limitará sólo a aquellos microorganismos que se sitúen dentro del radio de acción del oxígeno singlete, que en agua es muy limitado por su bajo tiempo de vida τ_{Δ} ($\sim 0,1 \mu\text{m}$). En consecuencia, la acción fotodinámica asociada al RDP^{2+} es más efectiva que en el caso del nC_{60} .

De este estudio se concluye que las suspensiones acuosas de nC_{60} demuestran ser muy efectivas para la inactivación bacteriana, especialmente en presencia de radiación a concentraciones en el orden de 10^{-9} M .

4. ANÁLISIS DE COSTES.

De los análisis económicos llevados a cabo por la OMS se extrae que cada euro invertido en el acceso a agua potable y a saneamiento básico en las zonas desfavorecidas del planeta repercute en un beneficio económico directo o indirecto de entre 5 y 28 euros o incluso más, dependiendo del grado de desarrollo de las regiones. Esto es así gracias a la reducción en los gastos médicos asociados a las enfermedades relacionadas con el agua, así como a la reducción de los días de trabajo perdidos por las personas enfermas.²⁵⁰ También se debe considerar el ahorro de tiempo en conseguir agua para el consumo humano, que puede ser invertido en actividades más productivas o en recibir educación en el caso de los niños, lo que repercute en la mejora de la calidad de vida de las personas.

Las diferentes técnicas de tratamiento de agua a nivel doméstico en áreas rurales aisladas, discutidas en el apartado de [Introducción](#), se ven inevitablemente influidas por la disponibilidad y la calidad del agua como recurso, lo que en la mayoría de regiones con problemas de acceso a agua potable viene determinado, sobre todo, por cuestiones climatológicas. Ya se comentó que, por lo general, una gran parte de estas regiones corresponde a zonas con elevados niveles de pobreza, aunque con niveles de estrés hídrico y de polución de aguas relativamente bajos, así como con tasas de precipitaciones moderadas o elevadas. En regiones con bajísimas tasas de precipitaciones, como el África sub-sahariana, se requeriría una inversión de unos 15–75 euros *per capita* anuales (amortizados en unos 10 años) para tratar de evitar, en la medida de lo posible, la dependencia del agua de lluvia (recogida de agua de lluvias, acceso a agua de pozo o manantiales, etc). Sin embargo, en regiones como Asia Central o Europa del Este, las infraestructuras básicas para almacenamiento y/o gestión de agua

²⁵⁰ Hutton, G., Haller, L. “*Evaluation of the Costs and Benefits of Water and Sanitation Improvements at the Global Level*”, 2004, World Health Organization, Geneva.

requerirían pequeñas inversiones del orden de 0,03–0,35 euros *per capita* anuales.⁴ Por otra parte, en el [subapartado 2.2](#) de la [Introducción](#) se comentó la disponibilidad de contenedores comerciales de bajo coste relativo (1–5 euros) y volumen adecuado (15–20 L) para el transporte y/o almacenamiento de agua en condiciones higiénicas.¹⁹ Todas estas cuestiones no se han tenido en cuenta a la hora de llevar a cabo una estimación económica de los sistemas de tratamiento de agua descritos en el presente trabajo, por tratarse de aspectos relacionados pero externos a las propias técnicas de mejora de la calidad microbiológica del agua.

De forma complementaria a la inversión en infraestructuras para el acceso y la gestión del agua como recurso, una de las recomendaciones llevadas a cabo por Naciones Unidas para el tratamiento de agua de consumo, es el empleo de equipos de pequeña escala para su uso a un nivel doméstico.⁴ Su aplicación vendrá influida por diferentes factores, como son la accesibilidad a las diferentes tecnologías o la disponibilidad de programas adecuados de financiación económica. En ese sentido, las lámparas UV, los sistemas de filtración o, de acuerdo con los sistemas aquí desarrollados, los reactores solares basados en tecnología CPC, pueden considerarse una buena elección para la potabilización de agua en el punto de uso.

Los costes asociados a los *prototipos* de reactor solar desarrollados pueden desglosarse en una serie de conceptos, si bien es necesario recalcar que se trata de prototipos y no de sistemas en producción, lo cual reduciría drásticamente los costes. En primer lugar, los colectores CPC descritos en el apartado de [Desarrollo Experimental](#), con 1 m² de superficie reflectora, suponen un coste aproximado de 1000 euros cada uno, lo cual les convierte en colectores de bajo coste relativo, comparables a los sistemas más eficientes de tipo plano y estático sin concentración de radiación.²⁵¹ El armazón de acero inoxidable, junto al depósito de almacenamiento de agua de polipropileno, suponen un desembolso de unos 1000 euros en su conjunto. Por otra parte, los elementos de PVC que constituyen el circuito de circulación de agua suponen, aproximadamente, 50 euros por sistema, a lo que habría que añadir cerca de 50 euros correspondientes a la bomba Pan World NH–10PX–H (90 euros en el caso de la bomba NH–50PX–X). Los sistemas de medición de temperatura e irradiación solar no son necesarios para el funcionamiento de los prototipos pero, dado que los fotorreactores solares han de utilizarse en zonas rurales aisladas y requieren del suministro de corriente eléctrica para la impulsión del agua a tratar, sí es necesario un pequeño panel solar que convierta a los sistemas en autónomos desde el punto de vista energético. Para ello se puede emplear un panel fotovoltaico de unos 40 W, resistente en condiciones ambientales, provisto de un regulador de carga para prevenir cortocircuitos y proteger a una batería específica para aplicaciones fotovoltaicas de larga duración (unas 50 h de autonomía), de manera que el coste de un sistema de suministro eléctrico por encargo con estas características,

²⁵¹ Collares, M. “Energía Solar y Óptica sin Imágenes para la Producción de Agua Limpia” en SOLARSAFEWATER: Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua, Blanco, J., Blesa, M. A. (eds.), 2005, Escuela de Posgrado UNSAM, Buenos Aires.

con unas dimensiones totales de aproximadamente $0,3 \text{ m}^2$, asciende a ~ 700 euros.²⁵² Por último, hay que considerar el requerimiento económico asociado a los materiales fotosensibilizadores. El coste correspondiente al material poroso de silicona empleado como polímero para la inmovilización del sensibilizador es de unos 500 euros por sistema de desinfección. El gramo de RDP^{2+} , adquirido comercialmente en cantidades suficientes, supone un precio de 26 euros, lo que de manera aproximada supone unos 30 euros por sistema de fotodesinfección como los descritos en esta Memoria, comparable al precio de fullereno (en torno a 20 euros por gramo).

Algunos de los costes descritos podrían reducirse teniendo en cuenta una serie de consideraciones, como, por ejemplo, el uso como depósito de almacenamiento de una garrafa de agua de polietileno de volumen adecuado y adaptada al circuito (Figura 73), lo que reduciría los costes en cerca de 400 euros. Por otra parte, el bastidor podría ser elaborado con un material resistente y ligero como el aluminio o, incluso, a partir de madera u otros materiales disponibles en el lugar de utilización del sistema de tratamiento de agua, de manera que el material seleccionado sea suficientemente robusto como para soportar todos los elementos y componentes del sistema y, además, permita conferir la inclinación optimizada al colector CPC en función de la latitud geográfica. Esto permitiría descontar hasta 600 euros en concepto de estructura de soporte. En relación con el panel solar, es relativamente sencillo elaborar un panel propio a partir de los componentes necesarios, con lo que los costes asociados a este componente del sistema pueden situarse en menos de 150 euros.²⁵³ Con todo lo anterior, un fotorreactor operativo supondría un desembolso estimado de entre 1800 y 3300 euros. Estos valores están estimados a partir del precio de materias primas y de costes técnicos correspondientes a países occidentales, lo que puede conducir a un ostensible abaratamiento en el caso de su fabricación y ensamblaje en los países en vías de desarrollo donde se utilizarían. No obstante, asumiremos un total de 3000 euros como el coste inicial maximizado asociado a los sistemas de desinfección solar de aguas descritos y empleados a lo largo del presente trabajo, dado que no se han considerado los costes de personal asociados al ensamblaje y puesta a punto de dichos sistemas. Los prototipos desarrollados podrán funcionar de una manera autónoma desde el punto de vista energético, sin necesidad de añadir reactivos químicos más allá del material fotocatalítico reutilizable. Por otra parte, y como estimación a la baja, tras 3 meses de utilización continua de los fotosistemas de tratamiento de agua, se haría necesaria la sustitución del material fotosensibilizador basado en complejos de Ru(II) , debido a los inevitables procesos de fotodegradación. Puesto que el polímero poroso de silicona es resistente y recargable con sensibilizador, es posible su reutilización sin coste adicional por este concepto puesto que, además, el proceso de recarga es fácil de llevar a cabo por el propio usuario. Como se indicó en el apartado correspondiente a las Publicaciones, la cantidad de sensibilizador recargado es muy inferior a la cantidad requerida en el

²⁵² <http://www.solardetox.net> (05/2009).

²⁵³ <http://www.earth4energy.com> (04/2009).

proceso inicial de inmovilización, mientras que los resultados de inactivación bacteriana son incluso superiores en comparación con el material fotosensibilizador nuevo. No obstante, se puede suponer un desembolso de unos 30 euros cada 3 meses en concepto de recarga de fotosensibilizador y considerar cierto margen en la estimación de costes por la posible necesidad de recambio de ciertas piezas del sistema, como por ejemplo la rotura de alguno de los tubos de vidrio o de las tuberías de PVC o la sustitución de alguna de las válvulas, aunque nuestros prototipos de trabajo no lo han requerido tras 4 años de funcionamiento a la intemperie. Por ejemplo, en ocasiones en las que ha granizado, una simple lona ha protegido eficazmente a los prototipos. En cualquier caso, puede emplearse una pequeña placa de vidrio templado que sirva de protección a los tubos de vidrio en caso de precipitaciones en forma de granizo (Figura 73). Para considerar todos estos aspectos, se asume un gasto variable en torno a 150 euros anuales en concepto de mantenimiento de los sistemas.

Una vez llevadas a cabo todas las consideraciones anteriores, es posible estimar el coste del agua potable suministrada por los sistemas de trabajo. Considerando el prototipo de aletas, dada su mayor eficiencia en la desinfección bacteriana, se ha de tener en cuenta que empleando $0,65 \text{ m}^2$ de material fotosensibilizador basado en complejos de Ru(II) , lo que supone $5/7$ del área colectora total, es posible obtener unos 20 L de agua potable tras aproximadamente unas 5–6 h de irradiación durante meses soleados correspondientes a la latitud de Madrid (que podrían reducirse significativamente en el caso del material recargado). Si en lugar de usar $5/7$ del área colectora total, el área cubierta fuese la totalidad del sistema, presumiblemente, se podrían suministrar, bajo las mismas condiciones, unos 30 L de agua de consumo. Por otra parte, hay que tener en cuenta las condiciones ambientales de las zonas soleadas del planeta en las que los sistemas desarrollados se emplearían, donde la irradiancia es cuantitativamente superior a las condiciones de Madrid, lo que potenciará los diferentes procesos germicidas involucrados en el tratamiento de agua. Sirva como ejemplo la provincia de Tucumán, en Argentina, donde ya se ha comentado el éxito en la desinfección *in situ* de aguas naturales de pozo empleando un sistema similar a los aquí desarrollados.⁵³ En dicha región, la irradiancia promedio en las horas centrales del día corresponde con unos 450 W m^{-2} , lo que supone un 10–15% de incremento en comparación con las condiciones de trabajo en Madrid.²⁵⁴ En una aproximación conservadora, estas condiciones podrían conducir a una cantidad de agua tratada de, al menos, unos 35 L de agua en un tiempo ostensiblemente menor, de manera que, llevando a cabo dos ciclos diarios de tratamiento, se podrían obtener un mínimo de 70 L de agua potable por día. Ello requeriría incrementar los costes iniciales del sistema en unos 200 euros, en concepto del aumento del material fotosensibilizador necesario. Para reforzar estas estimaciones operativas, sirvan como dato los resultados obtenidos en Tucumán, donde se emplea un prototipo de reactor coaxial (Figura 73), menos eficiente que el prototipo de aletas, en el que el área colectora es notablemente inferior, puesto que como ya se comentó, posee

²⁵⁴ <http://www.cepis.ops-oms.org> (01/2006).

únicamente 4 tubos de 1 m de longitud en lugar de los 5 tubos de 1,5 m de longitud correspondientes al sistema concéntrico aquí descrito. El caso objeto de análisis presenta pues, una mayor área y una configuración más eficaz (de aletas) en comparación con el sistema utilizado en Tucumán (coaxial) en el que empleando conjuntamente RDP^{2+} y TiO_2 soportados se consigue tratar eficazmente un volumen de 20 L de agua subterránea, con una enorme carga bacteriana y con elevado contenido de materia orgánica, en un periodo de únicamente 4 h correspondientes a días soleados, que se incrementan hasta 5–6 h en el caso de días nublados (Figura 74).⁵³

Teniendo en cuenta todo lo anterior, el volumen total de agua tratada podría corresponder, al menos, a unos 25.000 L a lo largo de un año. Si se considera una amortización de todos los gastos en un periodo de 5 años, incluyendo los costes correspondientes al mantenimiento y posible recambio de componentes, podríamos estimar un suministro de unos 125.000 L de agua, lo que para un coste estimado en unos 4000 euros por reactor, supondría un coste máximo de 0,03 euros por cada litro de agua potable obtenida. Como objetivo de cara al futuro, se contempla la mejora en la durabilidad del material fotosensibilizador, lo que resultaría en un aumento de la autonomía de funcionamiento del sistema y, por tanto, en una disminución en el coste del agua suministrada. Por otra parte, también sería posible considerar el escalado de los sistemas, puesto que si en lugar de 1 m² de superficie colectora, el área fuese mayor, se conseguiría un aumento en el volumen de agua tratada al mismo tiempo que una reducción en los costes fijos. Esto posibilitaría, incluso, el abastecimiento simultáneo de agua para varias familias, en el caso de pequeñas comunidades rurales, con el consiguiente abaratamiento de costes. En este sentido, y como valor próximo al límite técnico, se estima un coste comparable al de otras técnicas convencionales de tratamiento de agua,⁸ que se sitúa en torno a 0,2–0,7 euros por cada 1000 L de agua tratada para el caso de una planta piloto a escala industrial basada en tecnología CPC, empleando únicamente radiación solar o bien TiO_2 en suspensión como fotocatalizador.^{43,255}

En cuanto a la comparación de los costes de los sistemas basados en colectores CPC con respecto a otras alternativas, ya se discutió la insostenibilidad económica y medioambiental de la ebullición del agua, mientras que la desinfección solar a través del efecto SODIS se ve ampliamente mejorada con los prototipos de trabajo, tanto respecto al volumen de agua obtenido como respecto a la calidad microbiológica del agua tratada. No obstante, dados los costes reducidos o nulos de la técnica SODIS, la sostenibilidad y la disminución sustancial de la carga de patógenos presentes en el agua tratada mediante esta técnica, es posible considerarla como la técnica más simple a emplear en casos de emergencia, como una catástrofe natural o en el caso de un problema operacional con otras técnicas más eficaces como la aquí descrita. En cuanto a la técnica de cloración, que es el método más extendido a día de hoy para el

²⁵⁵ Vidal, A., Díaz, A. I. “High-Performance, Low Cost Solar Collectors for Disinfection of Contaminated Water”, *Water Environ. Res.*, **2000**, 72, 271–276.

tratamiento de agua en el punto de uso, ésta supone una reducción de costes en torno a un orden de magnitud o incluso más, en comparación con los prototipos de trabajo aquí descritos.²⁵⁶ Sin embargo, ya se discutió que la cloración presenta una serie de limitaciones como son el propio uso de compuestos clorados, que dan lugar a la formación de especies secundarias tóxicas en presencia de la materia orgánica contenida en las aguas naturales, además de dar lugar a una modificación sustancial en el olor y el sabor del agua tratada. Si bien esta técnica presenta la ventaja de proporcionar un efecto germicida posterior a su aplicación, ya se ha comentado que los fotorreactores basados en colectores CPC en los que se emplea TiO_2 soportado también presentan esta propiedad por el H_2O_2 residual que genera el correspondiente proceso fotocatalítico. Por otra parte, mientras que el sistema aquí descrito es autónomo y no requiere ningún tipo de operación diferente de la carga del agua, la cloración requiere suministros de reactivo, además de cierta formación por parte del usuario para la manipulación de productos químicos durante su utilización, lo que puede suponer un cierto riesgo para las personas sin entrenamiento y para el medioambiente. Todo ello conduce a que la técnica de desinfección basada en la cloración, si bien es de gran utilidad objetiva por resultar efectiva y muy económica, no es comparable al empleo de los reactores solares, tanto desde el punto de vista operativo y funcional, como desde los potenciales riesgos medioambientales y para la salud humana.

Por otro lado, la tecnología aquí desarrollada sí es comparable con otras técnicas de desinfección basadas en dispositivos autónomos convencionales, como los sistemas comerciales de filtración o las lámparas de radiación UV. Los filtros cerámicos artesanos han demostrado su eficacia para reducir las enfermedades asociadas al agua y hay que destacar que en los países desarrollados se fabrican filtros cerámicos con especificaciones exactas en el tamaño de poro y enfocados al tratamiento de agua en el ámbito doméstico. Se trata de los denominados filtros “*candle*”, donde el agua pasa del exterior del filtro a su interior, y cuya eficacia en el tratamiento del agua permite alcanzar la desinfección en condiciones óptimas de funcionamiento. Los gastos asociados a esta técnica, a un nivel doméstico para familias típicamente de cinco miembros, y según datos de la OMS, serían de unos 5–25 euros *per capita* en concepto de desembolso inicial, con unos gastos anuales asociados de 1–5 euros *per capita* para el reemplazamiento de filtros.²⁷ En condiciones óptimas, un filtro puede producir unos 20 L en 10 h y el coste del agua obtenida puede ser en torno a un orden de magnitud más bajo que empleando los prototipos solares. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, debido a la acumulación de impurezas, estas cantidades pueden disminuir de forma considerable con su uso, lo que unido a su relativa fragilidad, puede conducir a que los usuarios desistan rápidamente de usarlo, o bien, que las cantidades de agua suministrada terminen por no ser suficientes para cubrir las necesidades de consumo familiar.²⁷ Por otra parte, existen equipos comerciales basados en diferentes técnicas,

²⁵⁶ Clasen, F. J., Haller, L. “*Water Quality Interventions to Prevent Diarrhoea: Cost and Cost-Effectiveness*”, 2008, World Health Organization, Geneva.

enfocados a la mejora de la calidad microbiológica del agua a un nivel doméstico. WaterMarket (Control Chemicals, EE.UU.) o PuR (Procter and Gamble, EE.UU.) son sistemas comerciales que combinan la coagulación y la cloración. Los datos estimados del coste del recipiente de almacenamiento de agua ascienden a unos 5–10 euros cada unidad y los costes anuales correspondientes a los reactivos ascienden a unos 7–11 euros *per capita*, pero asociados únicamente a unos 2 L de agua tratada al día para cada persona de una familia de cinco miembros. Esto supone unos costes estimados equivalentes a los calculados con los sistemas basados en colectores CPC pero, además de tener las limitaciones asociadas a los procesos de cloración, la cantidad de agua potable suministrada es muy limitada.^{23,27} Otra opción de gran interés sería el empleo de lámparas de radiación UV. Según datos adaptados por la OMS sobre estimaciones llevadas a cabo por la US CDC a un nivel doméstico en el año 2001, para familias de cinco miembros, y suponiendo una paridad de un euro por dólar americano, las lámparas de radiación UV suponen un desembolso inicial de entre 100–300 euros por miembro familiar y unos gastos anuales de reemplazo de la lámpara de unos 10–100 euros *per capita*, a lo que habría que sumar los gastos necesarios para cubrir los requerimientos energéticos del sistema.²⁷ Si bien la autonomía de las lámparas es comparable a la de los sistemas descritos basados en tecnología CPC, estos datos suponen unos costes similares a los descritos para los prototipos solares, con la ventaja de una gran rapidez en el proceso germicida por parte de las lámparas UV. No obstante, existen una serie de desventajas ya comentadas, como son el posible recrecimiento de patógenos, una gran influencia de la turbidez y/o la presencia de compuestos que absorban la radiación UV, la resistencia de ciertos patógenos a dicha radiación y el requerimiento de cierto grado de formación por parte del operario para evitar una exposición inadecuada a la radiación UV, así como para un mantenimiento continuo de las lámparas. Por otro lado, hay que destacar que los costes podrían reducirse sensiblemente en el caso de su utilización a un nivel de pequeña comunidad, en lugar de un uso estrictamente doméstico, lo cual se ve muy favorecido en el caso de las lámparas gracias a la rapidez de su acción germicida. En este caso, los costes anuales de operación podrían reducirse hasta alcanzar los 0,02 euros por cada 1000 L de agua.²⁷ Por ello, el uso de lámparas UV posiblemente sea la opción más recomendable en el caso de comunidades rurales de un cierto tamaño, mientras que en el caso de unidades familiares aisladas pertenecientes al ámbito rural, ambas opciones (lámparas UV y reactores solares) serían competitivas. Por esto, la utilización de sistemas de tratamiento de agua basados en la fotosensibilización mediante tecnología CPC es una opción atractiva para el tratamiento de agua a un nivel doméstico.

La principal dificultad que supone la utilización de equipos tecnológicos como los prototipos solares descritos en este trabajo en áreas rurales aisladas a un nivel doméstico es, obviamente, el aspecto económico. Si bien los costes estimados podrían reducirse drásticamente a través de la producción en gran número y distribución de estos sistemas o de parte de sus componentes en las propias regiones con problemas de acceso a agua potable, los costes asociados seguirían siendo demasiado elevados para

las familias con bajos ingresos en las regiones más desfavorecidas del planeta. Los países en vías de desarrollo denominados países de renta media (“*Middle-income countries*”, *MICs*), en combinación con la inversión por parte del sector privado y la realizada a través de programas de subsidio o de financiación adecuados al poder adquisitivo de los usuarios, podrían financiar los costes derivados del acceso a agua potable y a saneamiento básico que permitiesen alcanzar los objetivos de la Declaración del Milenio para el año 2015. Sin embargo, los países de rentas más bajas (“*Low-income countries*”, *LICs*) no serían capaces de afrontar estos gastos. De acuerdo con datos de Naciones Unidas del año 2005, estos países difícilmente podrían hacer frente al 10% de los costes necesarios, de manera que las economías domésticas y, particularmente, las situadas en un entorno rural, no podrían asumir los costes derivados de los tratamientos de agua. Hay que tener en cuenta que, de acuerdo con los datos manejados en el año 2002 por el Departamento Británico para el Desarrollo Internacional (DFID) y otros organismos, 2800 millones de personas en el mundo cuentan con menos de 2 euros al día para vivir, mientras que 1200 millones de personas disponen de menos de 1 euro diario.⁴ Ante esta dramática situación, se hace necesaria la contribución conjunta de esfuerzos económicos, materiales y humanos por parte de gobiernos y autoridades a un nivel local y nacional, el apoyo internacional a través de la financiación de instituciones como el Banco Mundial o la asistencia de organizaciones como la ONU, OMS o UNESCO o a través de ONGs y de países e instituciones privadas que realicen donaciones a través de programas de cooperación internacional. También es importante el papel que pueden jugar organizaciones cívicas y religiosas, capaces de conseguir la implicación de las personas a nivel de pequeña comunidad. Sirvan como ejemplos de sostenibilidad comercial la fabricación en países en vías de desarrollo de pequeños filtros “*candle*” por un coste aproximado de 10 euros, gracias a la ayuda de organizaciones internacionales,²⁵⁷ o dos distribuidores de sistemas combinados de *filtración* y *cloración* como son la organización no gubernamental Gift of Water (GWI) y la compañía comercial Eagle Springs Filtration, que han conseguido la instalación y el mantenimiento de equipos en Haití y República Dominicana, respectivamente, dividiendo los costes entre las propias empresas, las familias beneficiadas y gracias al apoyo económico de patrocinadores e iglesias locales.²⁵⁷ Otro ejemplo interesante es el purificador de agua Pureit[®], de Unilever, basado en procesos de cloración y con un coste a partir de 19 euros, con una aplicación creciente en la India.²⁵⁸

²⁵⁷ “Household Water Treatment Options in Developing Countries: Filtration and Chlorination Systems”, 2009, CDC/USAID.

²⁵⁸ www.pureitwater.com (04/2010).

Podemos concluir afirmando que una solución factible, sostenible y deseable a los problemas del acceso al agua potable para la población más vulnerable, como aquella correspondiente a áreas rurales, consistiría en la diseminación paulatina de equipos tecnológicos de tratamiento solar de agua de cierto coste, como los aquí desarrollados, los cuales cuentan con la importante ventaja de la sostenibilidad medioambiental, dado que el principio en el que se basan es la utilización de la radiación solar como recurso abundante, inagotable y sin coste asociado como materia prima.

CONCLUSIONES.

Se ha demostrado la factibilidad del empleo de reactores solares basados en tecnología CPC dotados de películas poliméricas fotosensibilizadoras, para la desinfección de agua de consumo doméstico diario gracias a la acción biocida del oxígeno molecular singlete fotogenerado por la luz solar.

Materiales fotosensibilizadores.

Las dos familias de fotosensibilizadores objeto de estudio, complejos luminiscentes de Ru(II) y compuestos basados en fullereno (C_{60}), permiten un versátil diseño molecular, lo que abre un gran abanico de posibilidades para el desarrollo de materiales fotosensibilizadores. A través de la modulación de los ligandos quelatantes en el caso de los complejos metálicos de Ru(II) y mediante la modificación química de la molécula del fullereno, se pueden seleccionar las diferentes características estructurales, (foto)químicas, fotofísicas y fotodinámicas de los compuestos obtenidos.

Los fotosensibilizadores seleccionados, RDP^{2+} , RDB^{2+} y RSD^{4-} como complejos de Ru(II), y MPF como derivado catiónico de fullereno y el mismo C_{60} , han demostrado su efectividad para la fotogeneración de $^1\text{O}_2$ mediante iluminación en el UV(A)-Vis cuando se encuentran inmovilizados en películas delgadas de silicona porosa (pSil) como material de soporte más adecuado.

Los materiales de silicona en los que los fotosensibilizadores se encuentran inmovilizados por adsorción lipófila, han resultado ser significativamente robustos al lavado en agua del colorante, pero no así los polímeros de silicona con carácter iónico en los que el sensibilizador está unido electrostáticamente.

Los inevitables procesos de fotodegradación de los materiales sensibilizadores desarrollados afectan principalmente a las moléculas de fotosensibilizador inmovilizado y se ven acelerados en los microentornos más protegidos de la fase acuosa, donde el tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ es mucho más largo. No obstante, es posible exponer a la luz solar los materiales basados en complejos de Ru(II) durante meses.

Los complejos de Ru(II) en medio homogéneo no presentan carácter citotóxico a concentraciones del orden de 10^{-9} M bajo condiciones de oscuridad, frente a su marcada fototoxicidad por irradiación, debido a la eficaz generación de oxígeno singlete como especie reactiva. Los sensibilizadores basados en C_{60} objeto de este estudio, son insolubles en agua, aunque es posible obtener suspensiones acuosas estables de nanoagregados de fullereno (nC_{60}), que constituyen un medio microheterogéneo con carácter citotóxico en oscuridad a concentraciones del orden de 10^{-9} M, incluyendo también efectos fototóxicos. Por su parte, los diferentes materiales fotosensibilizadores

estudiados en procesos heterogéneos de desinfección presentan un carácter totalmente inocuo en ausencia de luz, aunque con grados de fototoxicidad variable.

Fotodesinfección de aguas.

Se ha demostrado la eficiencia de fotodesinfección de diferentes materiales fotosensibilizadores frente a dos cepas de bacterias indicadoras de contaminación de aguas naturales, *Escherichia coli* (gram-negativa) y *Enterococcus faecalis* (gram-positiva). Los estudios de inactivación bacteriana se han realizado empleando dichos materiales en un microrreactor a escala de laboratorio con simulador solar, a partir del cual y en combinación con pruebas a pequeña escala bajo irradiación solar, se han desarrollado y optimizado dos prototipos de reactor solar basados en tecnología CPC de diferente configuración, concéntrica y de aleta, en los que se han utilizado aquellos materiales sensibilizadores evaluados satisfactoriamente en el microrreactor.

La eficiencia de desinfección de agua por parte de los sistemas desarrollados es función de los parámetros fotoquímicos asociados a los materiales sensibilizadores y de la carga electrostática de los mismos, dada la carga negativa de la pared celular bacteriana y la naturaleza iónica de los propios sensibilizadores y de los materiales fotosensibilizadores preparados con ellos. Asimismo, también se ha considerado el efecto de otros factores como las diferentes condiciones operacionales en los fotorreactores y el efecto biocida de la propia radiación.

Los materiales sensibilizadores con carga neta negativa (aquellos basados en pSi^- con baja cantidad de sensibilizador catiónico inmovilizado o, probablemente, el material C_{60}/pSi), han demostrado ser ineficientes para la desinfección bacteriana, independientemente de su capacidad de generación de $^1\text{O}_2$, debido a los efectos de repulsión electrostática entre las bacterias y los materiales fotosensibilizadores.

Aquellos materiales fotosensibilizadores que producen insuficiente cantidad de oxígeno singlete se muestran poco eficaces para llevar a cabo la inactivación bacteriana, como es el caso del MPF/pSi , dada la baja probabilidad de desactivación del estado excitado del MPF por O_2 , o el RSD/pSi^+ , ya que la gran solubilidad del RSD^{4-} en agua limita su inmovilización efectiva sobre pSi^+ .

Los materiales que, en ausencia de repulsión electrostática con los microorganismos, dan lugar a la generación eficiente de $^1\text{O}_2$ en grandes cantidades, permiten obtener resultados apreciables de inactivación bacteriana. Éste es el caso de RDP/pSi y RDB/pSi , o del material RDP/pSi^- cuando complejo catiónico se inmoviliza en suficientes cantidades como para anular la carga neta negativa del polímero.

Empleando estos materiales fotosensibilizadores, las eficiencias de inactivación bacteriana vienen determinadas por la eficacia en la interacción entre el oxígeno singlete producido y los microorganismos a inactivar. Siempre que el $^1\text{O}_2$ se genere en cantidades suficientes, y teniendo en cuenta que la interacción bacteria-polímero no es

un factor limitante por las adecuadas propiedades hidrodinámicas de las siliconas porosas biocompatibles, el contacto de las bacterias con el $^1\text{O}_2$ viene condicionado por:

- i) El (micro)entorno en el que se disponen los sensibilizadores en los distintos materiales.
- ii) Las diferencias en el intercambio de bacterias entre la fase acuosa y los materiales sensibilizadores, lo que a su vez depende de las condiciones de circulación del agua a tratar.

Debido a estos factores, se observa que:

- La mayor eficiencia de fotogeneración de $^1\text{O}_2$ por parte del RDP/pSil respecto del RDB/pSil no provoca diferencias en sus capacidades para la inactivación bacteriana, independientemente de si el régimen de circulación del agua es laminar o de transición-turbulento, ya que ambos fotosensibilizadores se disponen adsorbidos en (micro)entornos equivalentes del pSil.
- Bajo condiciones laminares de circulación del agua, no hay diferencia entre la capacidad desinfectante del material recargado RDP/pSil-r respecto del correspondiente material original RDP/pSil, mientras que un régimen de transición-turbulento permite un notable incremento en la eficiencia de inactivación bacteriana por parte de RDP/pSil-r. Ello se debe a que el RDP^{2+} añadido se sitúa, preferentemente, en los (micro)entornos más superficiales del pSil, con lo que en condiciones operacionales adecuadas, se favorece el contacto entre el $^1\text{O}_2$ y las bacterias presentes en el medio acuoso.
- Dado que buena parte del sensibilizador presente en RDP/pSil^- se une a grupos aniónicos superficiales de la silicona porosa, en ausencia de efectos de repulsión electrostática con las bacterias, una circulación laminar del agua permite un contacto más íntimo entre los microorganismos y el $^1\text{O}_2$ fotogenerado por RDP/pSil^- , en comparación con el RDP/pSil.

La importancia relativa de los efectos bactericidas concurrentes en los dos prototipos de *reactor solar* desarrollados, esto es, el efecto del oxígeno singlete y el efecto de la radiación solar (efecto SODIS), es función del diseño óptico de sus colectores CPC, lo que determina la capacidad de inactivación bacteriana de los reactores por encima de posibles diferencias en las condiciones de circulación del agua. En el reactor concéntrico domina la fotosensibilización, mientras que en el prototipo de aletas, debido a un mayor paso óptico de la radiación a través del agua a tratar, el efecto SODIS es la contribución mayoritaria que rige los procesos de inactivación bacteriana, lo que unido al efecto biocida del $^1\text{O}_2$ fotogenerado, convierte al fotorreactor de aletas en un sistema de fotodesinfección más eficaz que el coaxial.

Aunque la inactivación bacteriana que produce el prototipo de aletas es mayor para una misma energía de radiación solar acumulada por litro de agua tratada, los dos prototipos permiten alcanzar límites de inactivación bacteriana comparables entre sí para tiempos similares de irradiación solar, debido al típico comportamiento sigmoide de las curvas

de supervivencia bacteriana que, en su tramo final, se suavizan hasta alcanzar la desinfección. Por ello, la dosis de radiación acumulada necesaria para conseguir la desinfección del agua empleando los dos reactores solares se sitúa a partir de 0,6 y 0,8 $\text{MJ m}^{-2} \text{L}^{-1}$ (360–700 nm) para el prototipo de aletas y coaxial, respectivamente, si bien es posible generalizar que una exposición solar de unas 6 h en días soleados a nuestra latitud, asegura la desinfección bajo las condiciones de operación seleccionadas para ambos prototipos, lo que lógicamente será mucho más fácil de alcanzar en regiones más soleadas del planeta.

Aunque la eficiencia de generación de $^1\text{O}_2$ por parte del RDP/pSil es superior a la correspondiente al RDB/pSil, el sensibilizador RDP^{2+} es estructuralmente más susceptible de sufrir procesos de fotodegradación por el propio $^1\text{O}_2$ que fotogenera. No obstante, no se ha observado la disminución en la capacidad fotodesinfectante de los materiales a medida que los sensibilizadores inmovilizados sufren procesos de fotodegradación. Esto es indicativo de que, hasta donde se ha estudiado, se mantiene la fogenración de cantidades suficientes de $^1\text{O}_2$. El material RDP/pSil ha demostrado su operatividad tras ser sometido a dosis de radiación acumulada de unos 500 MJ m^{-2} (360–700 nm), lo que supone, al menos, un uso continuado del material durante unos 3 meses correspondientes a días soleados a la latitud geográfica de Madrid.

Aunque se trata de materiales robustos, es inevitable que los materiales fotosensibilizadores sufran procesos indeseables de (foto)degradación. Se ha demostrado satisfactoriamente que los materiales sensibilizadores basados en complejos de rutenio y silicona porosa pueden ser reciclados con mejora en sus propiedades fotodesinfectantes mediante un sencillo proceso de recarga de cantidades adicionales de complejo, gracias a la robustez del polímero de silicona. Asimismo, empleando RDP/pSil-r en el prototipo coaxial, es posible alcanzar condiciones de desinfección para valores de radiación acumulada a partir de 0,3 $\text{MJ m}^{-2} \text{L}^{-1}$ (360–700 nm), en lugar de los 0,8 $\text{MJ m}^{-2} \text{L}^{-1}$ necesarios en el caso de emplear los materiales fotosensibilizadores no recargados. Esto equivale a un tiempo de irradiación de unas 2–3 h en días soleados a nuestra latitud.

Perspectivas de uso de los fotosistemas de tratamiento de agua desarrollados.

Se ha ensayado con éxito el tratamiento en el lugar de uso de aguas naturales contaminadas, donde se han empleado prototipos autónomos basados en los sistemas aquí descritos, lo que prueba su utilidad práctica y su potencialidad para un suministro sostenible de agua para consumo humano a nivel doméstico en comunidades rurales aisladas.

Los sistemas de desinfección desarrollados pueden ser escalados a conveniencia y permiten combinar el empleo de los materiales fotosensibilizadores basados en compuestos de Ru(II) y pSil con otros fotocatalizadores complementarios que doten a los reactores solares de ventajas adicionales, como pueden ser la capacidad

bacteriostática o la de fotodegradación de materia orgánica, por ejemplo, obtenidas mediante empleo simultáneo de TiO_2 soportado.

Los prototipos desarrollados han resultado ser técnica y económicamente comparables a otros dispositivos convencionales como las lámparas de radiación UV, y su uso no requiere cualificación por parte del usuario potencial, ni para el manejo de sustancias químicas ni para el manejo de los propios equipos tecnológicos.

ANEXOS.



FUNDACIÓN GENERAL
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID

La Fundación General de la Universidad Complutense de Madrid concede a

Francisco Manjón Navarro

en la categoría de Medio Ambiente el

PREMIO JOVEN 2005

en Madrid, a 23 de febrero de 2006

Carlos Berzosa Alonso-Martínez
Rector de la Universidad Complutense de Madrid



Zahlen Sie gegen diesen Scheck



zweitausendfünfhundert

Betrag in Buchstaben

Hans Huber AG

von

oder Überbringer

Huber Technology Prize 2008

3rd Prize for

Francisco Manjón

Complutense University Madrid

Währung

€

Betrag

Munich

Ort

8th May 2008

Datum

H. Huber

Unterschrift



Der vorgedruckte Schecktext darf nicht geändert oder gestrichen werden. Die Angabe einer Zahlungsfrist auf dem Scheck gilt als nicht geschrieben.

Scheck-Nr.

Konto-Nr.

Betrag

Bankleitzahl

Text

000000000000000000

00000000

000000000000000000

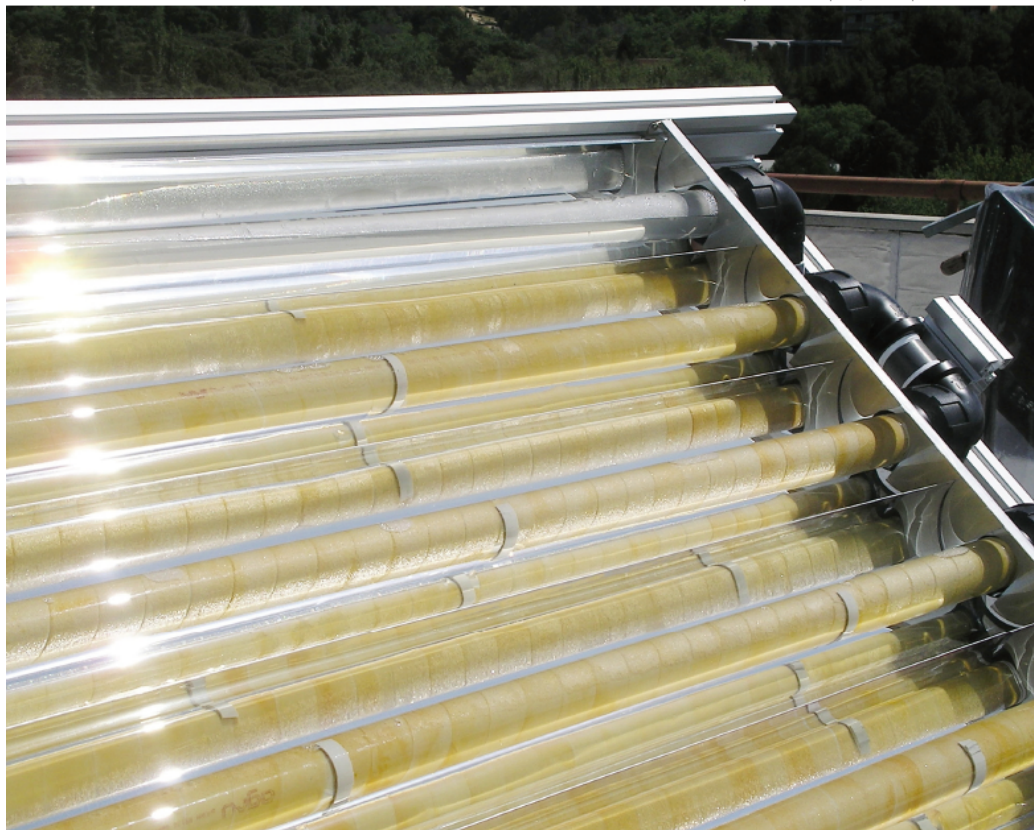
Bitte dieses Feld nicht beschriften und nicht bestempeln

Photochemical & Photobiological Sciences

An international journal

www.rsc.org/pps

Volume 8 | Number 7 | July 2009 | Pages 889–xxx



Themed Issue: Dedicated to Esther Oliveros

ISSN 1474-905X

RSC Publishing



1474-905X(2009)8:7;1-P



La Universidad Complutense de Madrid

Concede un

di **ACCÉSIT** ción
EN LA MODALIDAD DE VÍDEO BREVE

a

Francisco Manjón Navarro

por

**"Tecnología solar para la desinfección de
agua mediante oxígeno singlete"**

en el

II Concurso de Divulgación Científica

En Madrid, a 2 de diciembre de 2009

Fdo: Carmen Acebal Sarabia
Vicerrectora de Investigación y Política Científica



In Summary The Diels-Alder reaction is a concerted cycloaddition between electron-rich 1,3-dienes and electron-poor dienophiles to furnish is stereospecific with respect to the stereochemistry of the double bonds to the arrangements of the substituents on diene and dienophile. It follows

14-9 Electrocyclic Reactions

The Diels-Alder reaction couples the ends of two separate π systems. Can by the linkage of the termini of a *single* conjugated di-, tri-, or polyene? γ tion will describe the conditions under which such ring closures (and their **electrocyclic reactions**, take place. Cycloadditions and electrocyclic reaction class of transformations called **pericyclic** (*peri*, Greek, around), because transition states with a cyclic array of nuclei and electrons.

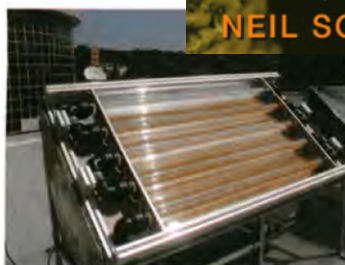
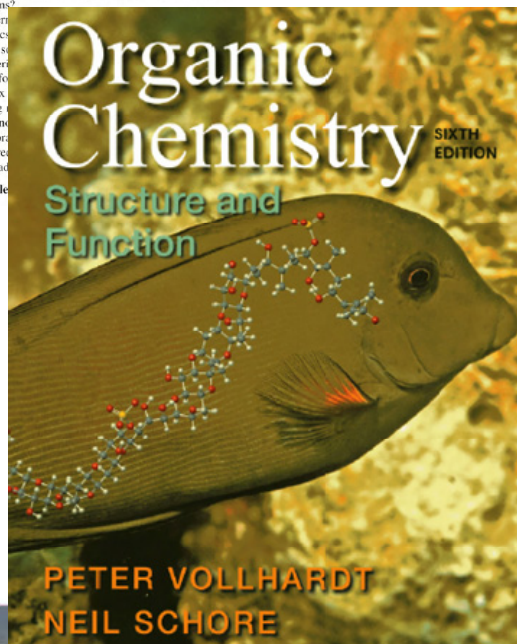
Electrocyclic transformations are driven by heat or light

Let us consider first the conversion of 1,3-butadiene into cyclobutene. This thermic because of ring strain. Indeed, the reverse reaction, ring *opening* of cyclobutene readily upon heating. However, ring *closure* of *cis*-1,3,5-hexatriene to 1,3-cyclohexadiene is exothermic and takes place thermally. Is it possible to drive these transformations in the thermally disfavored directions?

We know that in a thermally governed by thermodynamics, some cases by using light, so photon by the starting material. We have seen how such absorptions for 14-11). Molecules can relax to more stable products than starting materials. Chemistry in this text, but we do not deal with the energetically unfavorable transformations with light of appropriate frequency. Irradiation of 1,3-butadiene



Photochemical reactions are used increasingly in "green" technology. This reactor on the roof of Complutense University of Madrid is used for water disinfection. A polymer-supported dye absorbs sunlight to convert oxygen to a more reactive state ("singlet oxygen"), which destroys harmful bacteria in water (picture courtesy of Professor Guillermo Orellana, UCM).



Photochemical reactions are used increasingly in "green" technology. This reactor on the roof of Complutense University of Madrid is used for water disinfection. A polymer-supported dye absorbs sunlight to convert oxygen to a more reactive state ("singlet oxygen"), which destroys harmful bacteria in water (picture courtesy of Professor Guillermo Orellana, UCM).